

Série A, n° 176

N° d'ordre : 198

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Stéphane KARASIEWICZ

Licencié en Sciences

1^{re} THÈSE. — INFLUENCE DU CARBONATE DE SODIUM ET DU CHLORURE
DE CALCIUM SUR LA TENEUR EN ACIDES ORGANIQUES
DU MAÏS (ZEA MAÏS L.).

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTE

Soutenu le 29 MAI 1928, devant la Commission d'examen

Président : M. V. AUGER.

Examineurs : { M. H. MOUTON.
 { M. R. COMBES.

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1928

SÉRIE A, n° 176

N° D'ORDRE : 198

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Stéphane KARASIEWICZ

Licencié ès Sciences

1^{re} THÈSE. — INFLUENCE DU CARBONATE DE SODIUM ET DU CHLORURE DE CALCIUM SUR LA TENEUR EN ACIDES ORGANIQUES DU MAÏS (ZEA MAÏS L.).

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenu le 29 mai 1928, devant la Commission d'examen

Président : M. V. AUGER.

Examineurs : { M. H. MOUTON.
M. R. COMBES.

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

45, RUE RACINE, 45

1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen Ch. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires . . . P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.
P. PUISEUX.
V. BOUSSINESQ.
A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.

Professeurs ÉMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KOENIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
H. ANDOYER Astronomie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
G. URBAIN Chimie minérale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jéad PERRIN Chimie physique.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P.C.N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.

A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et Histologie comparées.
O. DUBOSQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales.
A. JOB Chimie générale.
A. MAILHE Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie appliquée.

E. HÉROUARD Zoologie.
E. PÉCHARD Chimie (Ens^t P.C.N.).
V. AUGER Chimie analytique.
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. GUILLET Physique.
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM Botanique.
A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
A. DEREIMS Géologie.
R. DONGIER Physique du globe.
A. DENJOY Calcul diff^{er} et intég^{ral}.
H. BÉNARD Physique (P.C.N.).

E. DARMOIS Physique.
G. BRUHAT Physique.
H. MOUTON Chimie physique.
L. JOLEAUD Paléontologie.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
A. DUFOUR Physique (P.C.N.).
F. PICARD Zoologie (Évolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND Botanique (P.C.N.)
A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK



A MONSIEUR V. AUGER

Professeur à la Faculté des Sciences

Hommage de respectueux dévouement.

A MONSIEUR RAOUL COMBES

Maître de Conférences à la Faculté des Sciences.

Témoignage de vive gratitude.

Influence du Carbonate de Sodium et du Chlorure de Calcium sur la teneur en acides organiques du Maïs

AVANT-PROPOS

Bien que le travail que nous présentons ici nous ait été indiqué par M.P. Mazé comme sujet de thèse, nous avons cependant dû le faire au Laboratoire de Physique végétale du Muséum d'Histoire Naturelle et sous la direction de M. le professeur E. Demoussy.

Dans notre premier chapitre, nous indiquons toutes les conditions nécessaires à la culture aseptique du Maïs (*Zea_mais* L.), ainsi que la manière dont nous avons procédé pour ajouter au liquide nutritif les solutions des sels dont nous voulions étudier l'influence. De plus nous décrivons la manière dont nous avons fait les prélèvements en vue de la mesure du pH.

Cette partie comprend également l'exposé de la méthode que nous avons suivie pour doser les acides organiques dans les plantes.

Le second chapitre présente les résultats obtenus et les conclusions que nous en avons tirées.

M. Mazé a bien voulu s'intéresser à nos cultures et à nos recherches.

Il ne nous a pas ménagé ses conseils précieux.

Nous sommes heureux de lui adresser ici nos plus sincères remerciements.

La partie analytique, la plus importante de nos études, a été faite sous la direction de M. le professeur E. Demoussy, qui nous a donné les conseils et les indications les plus utiles, sans lesquelles, certes, nous n'aurions su venir à bout de notre travail.

Il nous est agréable d'exprimer ici toute notre reconnaissance à M. le professeur E. Demoussy.

Nous avons commencé notre travail en automne 1925 et nous l'avons fini cet été.

Au cours de cette année, nous avons eu le plaisir d'avoir comme professeur, M. le professeur M. Bridel, au Laboratoire de Physique végétale. Quoique notre travail fût étranger aux recherches que poursuivait M. le professeur Bridel, nous avons pu cependant continuer nos expériences avec les mêmes facilités et nous tenons à présenter à M. le professeur Bridel nos plus vifs remerciements pour sa bienveillance à notre égard.

Nous sommes heureux de remercier également M. le professeur L. Mangin, Directeur du Muséum d'Histoire Naturelle, qui a bien voulu nous admettre au nombre des travailleurs de ce grand établissement scientifique.

HISTORIQUE

Les premières études relatives à l'acidité végétale, sont celles de T. de Saussure (1), qui remarqua en 1804 que lorsque des feuilles de Cactus sont enfermées dans un récipient la quantité de gaz carbonique dégagée n'est pas proportionnelle à l'oxygène absorbé. Il conclut de cette observation attentive et prolongée que l'oxygène sert à la formation de l'acide carbonique, qui reste, pendant la nuit, dans la plante, sous forme de réserve.

Quelques années plus tard, M. Bérard (2), dans des recherches très détaillées et très complètes (couronnées par l'Académie des Sciences) sur la maturation des fruits, trouve que les fruits verts n'ont pas au soleil la même fonction que les feuilles ; ils ne décomposent pas l'acide carbonique.

A la suite des études de M. Bérard, T. de Saussure (3) entreprit des travaux sur la même question et publia ses résultats, qui ne concordaient pas

1. T. de Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation*. Paris, 1804.

2. M. Bérard, *Sur la maturation des fruits*. Ann. Ch. Ph., 1818, t. 16, p. 152.

3. T. de Saussure, *De l'influence des fruits verts sur l'air avant leur maturité*. Ann. Ch. Ph., 1821, t. 19, p. 143.

avec ceux de son prédécesseur. Il en donna la théorie suivante: les fruits verts se comportent à l'air libre, au soleil et dans l'obscurité de la même manière que les feuilles, c'est-à-dire qu'ils absorbent, pendant la nuit, une partie, de l'oxygène de l'atmosphère qui les entoure et le remplacent par de l'acide carbonique.

En ce qui concerne l'acidité du verjus, cet auteur pense qu'elle dépend de la fixation de l'oxygène atmosphérique et que cette acidité disparaît lorsque les fruits absorbent uniquement du gaz carbonique à l'exclusion d'oxygène.

Donc, d'après T. de Saussure, l'oxygène sert à la formation de l'acidité du verjus.

I. — Formation des acides, résultat d'une oxydation incomplète des glucides.

Dehéraïn et Moissan (1), qui ont vérifié les travaux de T. de Saussure, n'arrivent pas aux mêmes résultats. D'après eux, l'oxygène absorbé sert à l'oxydation des glucides (autrefois hydrates de carbone), pour former des acides organiques.

En 1848, au cours d'une discussion avec Payen, Gaudichaud (2) signala pour la première fois les acides organiques libres dans les végétaux.

Plus tard, on fit des travaux sur la formation des

1. P. Dehéraïn et Moissan, *Hypothèse des formations des acides organiques*. C. R. Ac. Sc., 1887. t. 78, p. 1112.

2. M. Payen, *Sucs acides, neutres et alcalins dans les plantes*. C. R. Ac. Sc., 1848, t. 27 p. 1.

acides organiques dans les plantes, et l'on crut qu'ils naissaient sous l'influence de la lumière du jour, consécutivement à une assimilation de carbone.

En 1851, Hugo von Mohl (1) remarque que l'acidité des plantes diminue le jour et augmente la nuit, et que cette diminution avec émission d'oxygène provient de la décomposition de l'acide isomalique.

À l'époque de Liebig, on admettait que les acides sont un moyen terme entre l'acide carbonique et les glucides. Ils proviennent de trois réactions : de la réduction de l'acide carbonique, de l'oxydation des glucides et de la destruction des matières organiques.

Dans ses travaux sur la formation des acides dans la Vigne, M. Petit (2) émet l'hypothèse suivante : l'acide malique se forme dans les feuilles par l'oxydation de la cellulose.

Plus tard, Hugo de Vries, Kraus et Detmer (3) firent, chacun de leur côté, des recherches sur les variations de l'acidité dans les Crassulacées. Ils soumirent ces plantes à l'influence de la chaleur, de la lumière et de l'obscurité, et constatèrent que l'acidité augmente dans l'obscurité et diminue avec le jour.

1. Hugo von Mohl, *Grundzüge der Anatomie und Physiologie*, 1851.

2. M. Petit, *Sur la formation des acides dans la Vigne*. *C. R. Ac. Sc.*, 1869, t. 69, p. 760.

3. Hugo de Vries, *Naturkunde*, 3. Reechs, Deel 1, 1884. Amsterdam ; G. Kraus, *Anhandlungen der naturforschenden Gesells.*, 1884 ; M. Detmer, *Pflanzenphysiologie*, 1883.

De plus Kraus (1) fit des expériences sur la formation de l'acide isomalique dans l'obscurité, et dans une atmosphère remplie d'hydrogène. Il prouve ainsi que la formation de cet acide dans les *Crassulacées* est indépendante de toute oxydation de glucides.

On envisageait les phénomènes suivants : acidification ou production des acides et désacidification ou décomposition des acides organiques dans la plante.

Les travaux de Hugo de Vries (2) montrent que la diminution d'acide à la lumière est due, non seulement à la neutralisation, mais aussi à une désacidification.

M. Warburg conclut que (3) : dans les organes dépourvus de chlorophylle et dans les plantes étiolées, la lumière ne fait pas diminuer l'acidité, et que la désacidification, par conséquent, n'est pas un effet général.

L'acidification, d'après Warburg, est un effet de la respiration. Les acides des plantes grasses sont les produits d'une oxydation incomplète. La formation des acides dépend de l'intensité du métabolisme des principes immédiats.

La production est proportionnelle :

1. G. Kraus, *Pflanzenphysiologie*, Analysé dans *Ann. agron.*, 1884, 10, p. 283.

2. Hugo de Vries, Analysé dans les *Ann. agron.*, 1884, t. 10, p. 329.

3. M. Warburg, *Sur la signification historique des acides organiques*. Analysé dans les *Ann. agron.*, 1886, t. 12, p. 272.

1° A l'intensité de la métamorphose des principes immédiats ;

2° A la difficulté de l'accès de l'oxygène.

La destruction des acides est proportionnelle :

1° A l'intensité de la métamorphose des principes immédiats ;

2° Au libre accès de l'oxygène ;

3° A la température.

Ensuite Wehmer (1) dans ses études sur l'*Aspergillus niger* trouve que l'oxydation est plus active à haute qu'à basse température, et que dans cette dernière condition de température, la quantité d'acide oxalique augmente.

Dans un travail d'ensemble et de contrôle, K. Purjewicz (2) conclut que la décomposition des acides se produit sans influence ni de la lumière, ni d'une température plus élevée, ni d'un séjour prolongé dans l'obscurité. Toutes les plantes, qui se désacidifient à la lumière, s'acidifient à l'obscurité.

Pour lui, la production des acides dépend de l'éclairage antérieur de la plante dont l'action avait déjà été diversement interprétée. Kraus, en effet, n'y voyait qu'une question purement matérielle en ce sens que les glucides fabriqués pendant le temps d'éclairage fournissent les matériaux des acides. De Vries, au contraire, admettait une influence de la lumière sur le protoplasma. A ce propos, les faits

1. C. Wehmer, *Bot. Zeit.*, 1891, p. 165.

2. K. Purjewicz, *Die Bildung und Zersetzung der organischen Säuren bei den höheren Pflanzen*, *Bot. Zentr.*, 1894, t. 58, p. 368.

qu'apporte Purjewicz sont en faveur de l'opinion de Kraus. Le maximum de formation serait entre 12 et 15°. L'oxygène est plus important pour la production que pour la destruction des acides. L'anesthésie par l'éther favorise la désacidification. En un mot, les acides organiques sont les produits d'une oxydation incomplète des glucides et leur destruction n'est pas autre chose que leur combustion.

A. Gautier (1) croit que les acides végétaux proviennent de l'oxydation des principes aldéhydiques (sucres) avec participation de ferments oxydants, et en outre d'un dédoublement fermentatif des sucres.

Aubert (2) s'est proposé de résoudre la question suivante : étant donné que Hugo de Vries admet que dans un espace dépourvu d'acide carbonique pendant l'éclairage du jour, la plante grasse (Crassulacée) produit des acides organiques, la production des acides organiques est-elle indépendante de l'assimilation du carbone ?

Cette déduction a paru exagérée à Aubert. Après avoir effectué des recherches à ce sujet, il conclut que « la formation des acides organiques chez les Crassulacées pendant la nuit dépend de l'assimilation du carbone effectuée par ces plantes à la lumière des jours précédents ».

C. Gerber (3) recherche quelle est l'influence du

1. A. Gautier, *Leçons de Chimie Biologique*, 1897, p. 33.

2. E. Aubert, *Recherches physiologiques sur les plantes grasses*. Thèse Paris, 1892, p. 42-43.

3. C. Gerber, *Recherches sur la maturation des fruits charnus*. Thèse Paris, 1897, p. 84.

sectionnement et de l'augmentation de la température sur la respiration des pommes. Il observe que ces deux facteurs accroissent l'intensité respiratoire et cela d'autant plus que la pomme est plus riche en acides. L'accroissement du quotient respiratoire $\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}\right)$ par le sectionnement ou par l'élévation de la température, est dû uniquement à l'oxydation des acides ; celui de l'intensité des échanges gazeux est dû non seulement à la combustion des acides, mais encore à une combustion rapide des glucides. L'auteur établit une comparaison entre ses travaux et ceux de Hugo von Mohl, de Gaudichaud, de Hugo de Vries, d'Aubert et de Gerber.

A. Astruc (1) montre en outre que, si l'on supprime l'assimilation chlorophyllienne pendant le jour, on fait diminuer les acides formés durant la nuit suivante.

II. — Différentes causes de la formation des acides organiques.

Jusqu'à présent nous avons envisagé la production des acides organiques par oxydation incomplète des glucides dans les plantes.

Maintenant nous donnerons un aperçu général de la production des acides dans les plantes inférieures.

L'exemple le plus typique est celui qui a été

1. A. Astruc, *Recherches sur l'acidité générale*. Thèse Paris, 1903.

donné par Mazé et Perrier (1), qui ont fait produire de l'acide citrique au champignon *Cytromyces*, aux dépens des substances protéiques.

En 1915, Mlle Robert (2), faisant des cultures d'*Aspergillus niger* observe que lorsque le milieu nutritif s'épuise, le mycélium se détruit et de l'acide oxalique apparaît.

Wehmer (3) fit produire par un champignon de l'acide oxalique, et montra que cet acide ne se formait que si l'azote était sous forme peptonique, mais ne se produisait pas, si l'azote était sous forme ammoniacale.

Une autre cause de formation de l'acide oxalique a été mise en évidence par M. Molliard (4) ; lorsque le phosphore du milieu nutritif est inférieur à une dose optima. M. Molliard pense que le phosphore est nécessaire à une oxydation complète du sucre. M. Molliard (5) a également démontré que la production des acides organiques : oxalique, citrique et gluconique dépend du milieu dans lequel se développe le *Sterigmatocystis nigra*.

Si l'on réduit la dose de sel de potassium c'est

1. P. Mazé et A. Perrier, *C. R. Ac. Sc.*, 1904, t. 139, p. 311.

2. Mlle Th. Robert, *Recherches sur le rôle physiologique du calcium dans les végétaux*, Thèse Paris, 1915, p. 97.

3. C. Wehmer, *Bot. Zeit.*, 1891, p. 165.

4. Molliard, *Observations sur le « Sterigmatocystis nigra », en présence d'une dose réduite de phosphore*. *C. R. Soc. de Biologie*, 1920, t. 84, p. 429.

5. M. Molliard, *Influence d'une dose réduite de potassium sur les caractères physiologiques du « Sterigmatocystis nigra »*. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, 170, 949.

l'acide oxalique qui apparaît. L'insuffisance de la nutrition azotée donne lieu à une production d'acide citrique.

En diminuant notablement la quantité d'azote et de l'ensemble des sels minéraux on a production d'acide gluconique (1).

Après cette courte indication des causes de la formation des acides, nous allons maintenant examiner les résultats déjà obtenus sur la question qui a fait l'objet de nos recherches, à savoir : l'influence sur la production des acides organiques dans la plante : 1° du calcium ; 2° de la réaction du milieu.

1° Dans cet ordre d'idées, nous devons tout de suite constater que jusqu'ici on n'a guère envisagé la formation des acides, qu'en ce qui concerne seulement la formation de l'acide oxalique, soit à l'état libre, soit sous forme de sel de calcium. Ce sont surtout les végétaux inférieurs qui ont été étudiés à cet égard. C'est Duclaux (2) qui en 1883 signala le premier que l'*Aspergillus niger* cultivé en présence du calcium renferme au bout de quelque temps des cristaux d'oxalate de calcium. Quelque temps après, Wehmer (3), ayant ajouté au liquide de culture, différents sels (carbonate de calcium, phosph. disodique, nitrate, chlorure, etc.) observe aussi la for-

1. M. Molliard, *Sur une nouvelle fermentation acide produite par le « Sterigmatocystis nigra »*. C. R. Ac. Sc., 1922, t. 174, p. 881 ; *Nouvelles recherches sur la formation d'acides organiques par le « Sterigmatocystis nigra »*. C. R. Ac. Sc., 1924, t. 178, p. 41.

2. E. Duclaux, *Chimie Biolog.*, 1883, p. 200.

3. C. Wehmer, *Bot. Zeit.*, 1891, t. 61, p. 233.

mation d'une importante quantité d'acide oxalique. Il constate le même phénomène, en ajoutant des substances nettement basiques à la solution nutritive. Benecke (1) observe des faits du même ordre sur le champignon, mais pas, lorsque l'azote de nutrition se trouve sous forme ammoniacale.

Monteverde (2) et surtout Amar (3), dans leurs études histologiques, constatèrent micrographiquement l'augmentation des cristaux d'oxalate de calcium, dans les plantes cultivées en présence de doses croissantes de calcium.

Plus tard, Mlle Robert (4) communique, comme conclusion de ses études sur l'influence du calcium que « si dans le milieu il existe un sel de calcium, l'acide oxalique au lieu d'être déversé à l'extérieur est fixé dans le mycélium, à l'état d'oxalate de calcium ». Les études ont été faites, dans le même ordre d'idées, par Wl. Budkewitsch (5) sur cultures de Mucédinées. Il a examiné le rôle du milieu des cultures, et la production d'acides citrique et gluconique en présence de sel de calcium.

1. W. Benecke, *Bot Zeit.*, 1891, t. 61, p. 79.

2. P. Monteverde, *L'oxalate de calcium et l'oxalate de magnésium dans la plante*. Saint-Petersbourg (analysé dans *Bot. Zentralblatt*), t. 43.

3. M. Amar, *Sur le rôle de l'oxalate de Ca dans la nutrition des végétaux*. *Ann. des Sciences Nat. (botanique)*, 1904, t. XIX, p. 195.

4. *Loc. cit.*, p. 149.

5. Wl. Budkewitsch, *Über die Bildung der Glucon- und Citronensäure in den Pilzkulturen auf Zucker*; *Biochem. Zeitschr.*, 1924, 154, 177.

Tout récemment K. Bernhauer (1) a fait des études détaillées sur la formation des acides oxalique, gluconique et citrique par *l'Aspergillus niger*. Il constate la formation de ces acides en présence de carbonate de calcium et en absence de l'azote.

2° Nous n'avons trouvé que peu de travaux antérieurs en ce qui concerne l'influence de la réaction du milieu sur la production des acides dans les plantes.

Wehmer (2) et Benecke (3) ont bien montré que lorsque des sels ammoniacaux alcalinisent le milieu au cours de la végétation, il n'y a pas production d'acide oxalique dans le mycélium. Mais c'est surtout M. Molliard (4) qui a éclairé la question. Ayant cultivé le *Sterigmatocystis nigra*, d'une part en présence du carbonate de sodium, d'autre part en présence d'acide chlorhydrique, il ne trouve de l'acide oxalique dans le milieu de culture que dans le premier cas.

M. Molliard énonce sous forme de loi que la formation de l'acide oxalique résulte de la réaction des cellules végétales à l'alcalinité du milieu nutritif, et il conclut en outre que « la quantité d'acide oxalique produit dépend : 1° du poids du mycélium ;

1. K. Bernhauer, *Über die Säurebildung durch « Aspergillus niger »*. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, 172, 296-349.

2. C. Wehmer, *loc. cit.* t. 49, p. 233.

3. W. Benecke, *loc. cit.*, t. 61, p. 79.

4. M. Molliard, *Sur la signification physiologique de l'acide oxalique*. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, t. 83, p. 351 ; *Influence de la réaction du milieu sur la respiration du « Sterigmatocystis nigra »*. *C. R. Soc. Biol.*, 1920, t. 84, p. 51.

2° de la quantité absolue d'alcali en présence de laquelle se trouve le mycélium et, 3° de l'alcalinité réalisée par unité de volume du liquide substitué. »

K. Bernhauer (1) examinant ses cultures trouve aussi que l'alcali retarde l'accroissement de la plante et d'autre part le milieu alcalin favorise la production des acides organiques.

En outre, la réaction alcaline du milieu nutritif favorise l'absorption des cations et influe beaucoup sur le développement de la plante, comme il a été démontré par S. Kolotova (2).

1. *Loc. cit.*

2. S. Kolotova, *Quelques observations sur l'influence du milieu sur l'entrée des substances minérales dans la plante dans les cultures en milieu aqueux* (en russe). *Bull. Inst. Rech. Biol. Univ. Perm.*, 1927, V, 279-286, 18 tabl. Analysé dans *l'Année Biol.*, 1926-1927, VI, I, 615.

PLAN ET BUT DU TRAVAIL

L'exposé historique que nous venons de faire nous fait voir que les acides organiques dans les plantes supérieures et inférieures n'ont cessé de préoccuper de nombreux savants, et que la question a été traitée dans des sens très divers.

Dans ce grand chapitre de la physiologie végétale que constituent les acides organiques des plantes, nous avons entrepris d'étudier les variations des acides organiques, suivant les conditions du milieu où se développe la plante.

Il était logique de croire que les éléments qui entrent dans la composition des tissus végétaux peuvent faire varier pendant la croissance non seulement le poids de la plante, ce qu'on a maintes fois constaté, mais aussi la quantité des acides organiques.

Nous ne voulons pas traiter ici de l'importance de ces éléments mais uniquement de leur rôle dans la formation des acides organiques. Parmi ces éléments, le calcium dont le rôle fait précisément l'objet de cette étude contribue à fixer les acides à l'intérieur de la plante ; et sa présence est constante dans la terre et partout où se développe une plante.

En second lieu, nous nous sommes demandé en quelle proportion varient les acides organiques en fonction de l'alcalinité du milieu extérieur.

Le sel de calcium que nous avons pris pour nos études, a été le chlorure de calcium cristallisé. Le chlorure de calcium a été utilisé pour charger le milieu de culture en sel soluble de calcium sans changer son pH. L'alcali était sous forme de solution de carbonate de sodium de concentration connue; ce traitement par le carbonate de sodium a eu pour but d'augmenter l'alcalinité.

En rendant alcalin le milieu de cultures, nous avons voulu savoir comment varient les acides de la plante vis-à-vis de l'alcali. La variation des acides dans les végétaux inférieurs a été élucidée par M. Molliard, comme nous l'avons dit, dans la partie historique. Nous n'avons donc fait porter nos recherches que sur les végétaux supérieurs. Mais il nous a paru difficile de rechercher les acides dans nos milieux de culture, étant donné la composition complexe du liquide nutritif.

Dans ses études sur le « *Sterigmatocystis nigra* » en milieu alcalin M. Molliard (1) a dosé l'acide oxalique excrété par la plante pendant la végétation.

Nous avons généralisé la question en dosant les acides organiques restés dans la plante. Parmi ces acides l'acide oxalique prédomine. Il est accompagné, des acides malique, citrique et tartrique.

1. *Loc. cit.*

Nous avons donc cultivé du Maïs dans une solution nutritive, qui jusqu'à la fin resta indemne de toute végétation microbienne. Nous avons fait 3 séries successives de cultures.

1^o la 1^{re} série, conduite du 16 avril 1926 au 16 juin suivant, comprenait 20 plantes se développant dans des flacons de 2 lit., et réparties en 2 groupes de 10, l'un pour le chlorure de calcium, l'autre pour le carbonate de sodium.

2^o La 2^e série (du 25-5 au 19-8-1926) utilisait 12 flacons : les uns de 5 lit., les autres de 3 l., répartis, comme précédemment en 2 groupes de 6.

3^o Enfin la 3^e a été semblable à la 1^{re}, mais commença le 1^{er} juillet pour finir le 14 septembre 1926.

Voici le plan que nous adoptons dans notre exposé.

I. — Technique employée.

1. Choix de la plante, préparation et stérilisation des flacons, méthode de culture aseptique.

2. Liquide nutritif.

3. Introduction du liquide nutritif et des sels.

4. Mesure du pH.

5. Durée des cultures, récolte, lavage et séchage des plantes.

6. Détermination des acides organiques :

a) principe de la méthode ;

b) mode opératoire.

II. — Résultats et conclusions.

I. Résultats des mesures de transpiration :

- a) deuxième série ;
- b) troisième série.

II. — Résultats des mesures de pH. :

- a) première série ;
- b) deuxième série ;
- c) troisième série.

III. — Comparaison entre la durée de la vie des plante et la quantité des sels ajoutés.

IV. — Influence des sels ajoutés sur le développement de la plante.

V. — Résultats des dosages des acides organiques (1) :

- a) deuxième série ;
- b) troisième série.

VI. — Conclusions.

1. St. Karasiewicz, *Influence du carbonate de sodium et du chlorure de calcium sur l'acidité du suc de Maïs*. C. R. Ac. Sc., 1927, t. 187, p. 1192.

PREMIÈRE PARTIE

I. — TECHNIQUE EMPLOYÉE

§ 1. — Choix de la plante, préparation et stérilisation des flacons, méthode de culture.

a) *Choix de la plante.* — Pour nos recherches nous aurions pu utiliser n'importe quelle plante à condition qu'elle soit adaptable à la culture aseptique, robuste, et de poids relativement élevé pour faciliter les conditions de l'analyse.

Le Maïs (*Zea Maïs L.*) remplissait bien toutes ces conditions. Le Maïs a été cultivé aseptiquement par de nombreux auteurs et a donné de bons résultats dans d'autres recherches. Ensuite, sa méthode de culture aseptique a été établie d'une manière tout à fait satisfaisante. Utilisée par Mazé (1), elle donne de bons résultats. Elle est simple et très pratique.

b) *Préparation et stérilisation des flacons.* — P. Mazé emploie des flacons spéciaux ; leur goulot est modifié de façon à supporter la plante, une seconde ouverture sert à l'introduction du liquide

1. P. Mazé et A. Perrier, *Recherches sur l'assimilation de quelques substances ternaires par les végétaux à chlorophylle*. Ann. Inst. Pasteur, 1904, t. 18, p. 721.

pendant la végétation. Ces flacons sont en verre résistant à la stérilisation. Ils sont très coûteux, mais on peut les remplacer par ceux qu'on trouve couramment dans le commerce.

Voici comment nous avons procédé pour faire supporter la plante par le goulot : nous avons fait deux tubes pour chacun des flacons. L'un de grand diamètre, de 2 cm. et long de 15 cm. Il s'enfonçait jusque sous la surface du liquide nutritif. Sa partie inférieure était rétrécie pour que le coton contenant la graine et les racines soit supporté avec toute la plante. L'autre tube, très étroit, descendait jusqu'au fond du flacon ; il était destiné à introduire des solutions ou bien à faire des prélèvements du liquide nutritif pour mesurer le pH. Ces deux tubes étaient maintenus dans le goulot avec du coton non hydrophile, de manière à fermer l'ouverture du flacon et à maintenir la plante.

Les flacons ainsi préparés et contenant du liquide nutritif étaient fermés complètement avec du coton et du papier fortement attaché, pour empêcher l'évaporation trop grande du liquide pendant la stérilisation.

Pour éviter l'éclatement du flacon pendant la stérilisation on le chauffe doucement, au début, et on le maintient dans l'eau de l'autoclave. Le refroidissement doit être fait également avec précaution. On baisse la flamme graduellement et l'on introduit l'air après quelque temps seulement. Le refroidissement brusque et l'introduction de l'air provoquent

le plus souvent l'éclatement des flacons. En prenant ces précautions, nous avons stérilisé à 120° , pendant un $\frac{1}{4}$ d'heure, nos flacons ordinaires, sans perte considérable. Après la stérilisation, on retire les flacons et, s'ils sont chauds, on les met sur des planches pour les laisser refroidir complètement.

c) *Méthode de culture aseptique.* — La méthode aseptique que nous avons suivie, est celle de M. Mazé, que nous avons citée plus haut. Tout d'abord, nous avons stérilisé les graines de Maïs de la manière suivante : On choisit 40 à 50 bonnes graines sur l'épi de Maïs et on les met dans une fiole conique de 200 cm^3 avec de l'alcool, pour les dégraisser. On agite le contenu pendant quelques minutes, puis on décante l'alcool et l'on introduit à sa place un peu de sable stérilisé avec de l'eau également stérilisée, et l'on agite de nouveau pendant quelques minutes.

Pendant que l'on décante, le sable s'en va avec les impuretés, qui adhéraient aux graines. Ces graines ainsi traitées sont stérilisées finalement avec du bichlorure de mercure (1 g. pour 1000), pendant 10 minutes ; après quoi, on lave les graines 4 fois avec de l'eau stérilisée, puis on bouche la fiole aseptiquement.

Nous avons préparé d'autre part les tubes de germination. Ces tubes ont 30 cm. de longueur et 2 cm. de diamètre. On les remplit avec environ 50 cm^3 . d'eau et l'on bouche avec deux tampons de coton non hydrophile ; l'un de ces deux tampons à

la partie inférieure servira à supporter la graine, l'autre, plus grand, fermera l'entrée du tube. Les tubes ainsi préparés sont enveloppés avec du papier et fortement attachés pour empêcher le coton de s'échapper pendant la stérilisation, qui se fait dans l'autoclave à 120° pendant un 1/4 d'heure.

Dans ces tubes stérilisés et refroidis, on met aseptiquement les graines de Maïs préparées précédemment. On débouche le tube et l'on fait descendre le tampon inférieur avec une baguette de verre préalablement stérilisée sur la flamme d'une lampe à alcool, jusqu'à ce que le tampon plonge à moitié dans l'eau. A ce moment, on introduit la graine en la plaçant de manière qu'elle pousse directement dans le coton. Pour cela on enfonce un peu la graine dans le coton par sa partie germinative et l'on ferme l'ouverture avec le tampon passé à la flamme. Cette opération nécessite deux personnes : l'une qui prélève les graines avec des pinces, l'autre qui les place dans le tube et qui le ferme. Ce procédé a permis la germination des graines dans des conditions d'asepsie complète.

Les plantes germèrent dans les tubes et restèrent environ un mois. Au bout de ce temps, elles avaient atteints 25 à 30 cm. de hauteur. A ce moment, la tige de la plante est assez forte et on peut la transporter aseptiquement dans le flacon. Pour effectuer ce travail, il faut être aussi deux ; un pour déboucher le tube de germination et retirer la plante avec un fil passé à la flamme, puis la transporter dans le

flacon de culture ; un autre, pour ouvrir le flacon en déchirant le papier et soulever le coton du tube à sa partie supérieure, puis fixer la tige avec du coton stérilisé. Les plantes mises en flacon sont placées soit dans la serre, soit exposées à l'air libre, si la température le permet.

§ 2. — Liquide nutritif.

Pour la méthode de culture synthétique on emploie plusieurs sortes de solution nutritive. Il nous a paru préférable d'utiliser la solution nutritive dont P. Mazé a établi la formule et qu'il a étudiée avec beaucoup de soin (1).

Dans l'expérience où nous voulions étudier l'influence du calcium nous avons dû remplacer l'azotate de sodium par l'azotate de calcium, et cela en quantité telle que la teneur en azote nutritif fût la même.

Le liquide avait la composition suivante :

Azotate de calcium	0 gr. 3192	au litre.
Phosphate bipotassique.	0 gr. 5	—
Sulfate de magnésium crist.	0 gr. 1	—
— de fer —	0 gr. 05	—
Chlorure de manganèse.	0 gr. 025	—
Sulfate de zinc crist.	0 gr. 029	—
Silicate de potassium.	0 gr. 025	—
Carbonate de calcium	1 gr.	
Fluorure de sodium	(1/500.000)	0 gr. 000002

1. P. Mazé, *Recherches sur la physiologie végétale*. Ann. Ins. Pasteur, 1911, t. 25, p. 705.

Sulfate d'aluminium	(1/100.000) 0 gr. 00001
Borate de sodium	(1/250.000) 0 gr. 000004
Iodure de potassium	(1/500.000) 0 gr. 000002
Eau de source.	quantité suf. pour 1.000 cm ³ .

Le liquide qui nous a servi pour l'étude de l'influence du carbonate de sodium avait la composition suivante :

Azotate de sodium.	0 gr. 3308	au litre.
Phosphate bipotassique	0 gr. 5	—
Sulfate de magnésium crist.	0 gr. 1	—
— de fer	0 gr. 05	—
Chlorure de manganèse	0 gr. 025	—
Sulfate de zinc crist.	0 gr. 029	—
Silicate de potassium.	0 gr. 025	—
Carbonate de calcium	1 gr.	—
Fluorure de sodium	0 gr. 000002	—
Sulfate d'aluminium	0 gr. 00001	—
Borate de sodium	0 gr. 000004	—
Iodure de potassium	0 gr. 000002	—
Eau de source	q. s. p.	1.000 em ³ .

Ce liquide a été préparé en faisant des solutions de sels de concentration connue dont nous avons prélevé ensuite une certaine quantité avec une pipette graduée, de façon à avoir les poids définis dans la composition du liquide, puis en complétant le volume à 1 litre avec de l'eau de source.

Nous avons préparé le phosphate bipotassique nous-même.

Le liquide nutritif ainsi obtenu a été versé dans des flacons, ces derniers furent bouchés avec du coton,

puis soumis à la stérilisation. Après stérilisation et refroidissement, les flacons étaient prêts pour la culture.

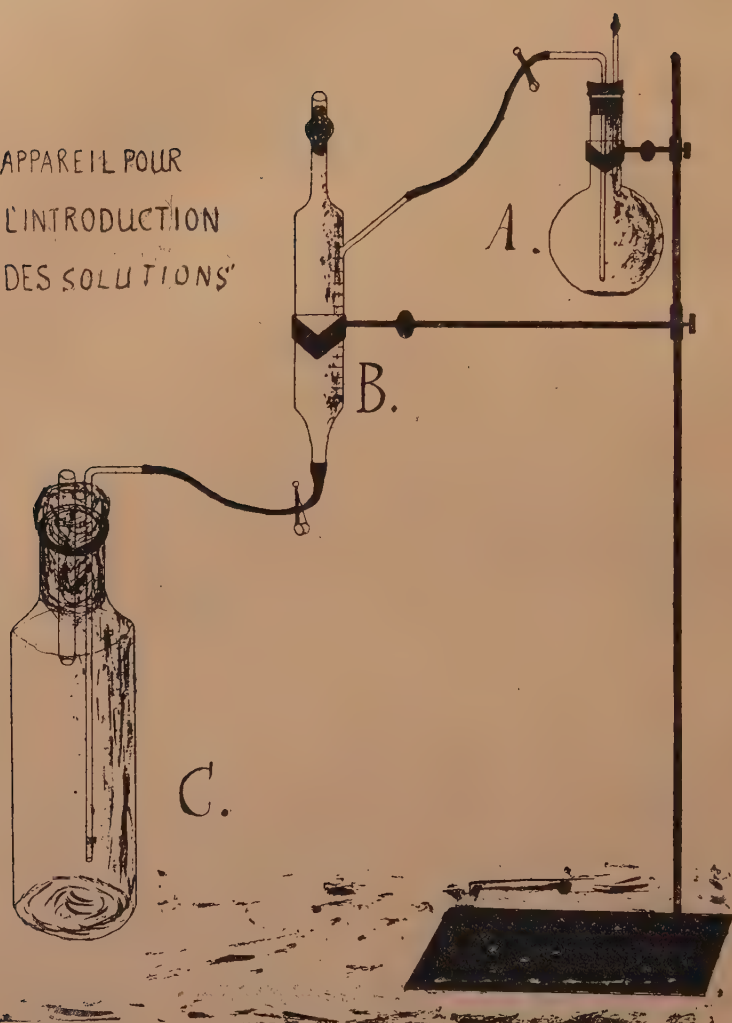
§ 3. — Introduction dans les flacons de la solution nutritive et des solutions de sels.

Comme au cours de la végétation de la deuxième série, qui a été faite dans les flacons de 3 et de 5 litres pour l'obtention des plantes à poids le plus élevé, le liquide nutritif s'épuisait, nous avons introduit aseptiquement 1 litre de solution nutritive, pour parer à cet épuisement du liquide primitif. Cette solution nutritive contenait l'azotate et le phosphate bipotassique dans des proportions égales à celles du liquide primitif.

L'introduction de ce liquide présentait certaines difficultés en ce sens que nous voulions conserver nos cultures aseptiques jusqu'à la fin de la végétation. Il fallait prendre garde d'infecter nos milieux de culture. En conséquence, nous avons imaginé pour l'adapter au flacon de culture l'appareillage que nous présentons ci-dessous.

A la partie supérieure, le ballon A contient la solution à ajouter. Il communique par un tube de caoutchouc avec la burette B graduée, fermée à sa partie supérieure avec du coton stérilisé. Une pince permet de verser dans la burette la quantité voulue du liquide à introduire. Le flacon C contient notre culture. Pour amorcer la première addition, nous avons retourné le ballon et ouvert la pince du haut,

APPAREIL POUR
L'INTRODUCTION
DES SOLUTIONS



de manière à remplir la burette. Les additions suivantes se faisaient par la simple ouverture de cette pince. Une fois la burette remplie, on ferme la pince et l'on ouvre celle du bas.

Après l'opération, on chauffe à la flamme le bout du tube et l'on ferme avec du coton, également passé à la flamme. Le tube de caoutchouc du bas de la burette doit être stérilisé et changé après chaque opération.

Chaque série, comme nous l'avons dit, est divisée en 2 groupes : l'un qui devait recevoir le carbonate de sodium, et l'autre le chlorure de calcium.

Carbonate de sodium.

Les doses versées dans la première série furent les suivantes (au bout de 10 semaines de végétation) :

0 g. 2 dans 2 flacons à 2 litres	} les autres flacons servant de témoins.
0 g. 5 — 2 — — —	
1 g. — 2 — — —	

Pour la deuxième série (au bout de 8 semaines de végétation) le groupe correspondant reçut :

2 g. dans 1 flacon à 5 litres	} les autres servant de témoins.
3 g. — 1 — — —	
5 g. — 1 — — —	

Pour la troisième série, le même groupe reçut (au bout de 7 semaines de végétation) :

2 g. 5 dans 2 flacons à 2 litres	} les autres servant de témoins.
4 g. — 2 — — —	

Chlorure de calcium cristallisé.

Dans la première série, furent versées les doses suivantes de chlorure de calcium (au bout de 10 semaines) :

4 g. dans 2	flacons de 2 litres	} les autres flacons servant de témoins.
8 g. — 2	— —	
16 g. — 2	— —	

Dans la deuxième série, nous avons mis (au bout de 8 semaines de végétation) :

32 g. dans 1	flacon de 5 litres	} les autres servant de témoins.
48 g. — 1	— —	
60 g. — 1	— —	

Dans la troisième série, nous avons mis (au bout de 7 semaines de végétation) :

30 g. dans 2	flacons de 2 litres	} les autres servant de témoins.
60 g. — 2	— —	

Après ce traitement par les solutions de sels nous avons noté les observations et nous en avons tiré les conclusions qui seront présentées dans la deuxième partie de notre travail.

§ 4. — **Mesure du pH.**

Nous avons jugé nécessaire de déterminer les variations du pH, pendant la croissance de nos plantes. Cette détermination de pH avait pour but de contrôler nos liquides nutritifs dont la composition variait par suite de la croissance de la plante.

Comme il a été démontré par E. Minima (1) au sujet des variations du pH et de la sécrétion des acides organiques, on trouve que le pH du sol varie, il y a abaissement pendant le premier tiers de la période de végétation, puis légère élévation et nouvel abaissement vers la fin de cette période.

Nous prélevions aseptiquement du liquide de la manière suivante : le petit tube du flacon de culture étant débouché, nous y adaptons un tuyau de caoutchouc dont l'autre extrémité est unie à un petit tube de verre plongeant dans un tube à essai dont il traverse le bouchon ; une deuxième tubulure permettait d'aspirer. Le pH était ensuite déterminé en suivant la méthode de Sørensen décrite par M. Guillaumin (2) ; nous l'avons déterminé : 1° au début de la culture ; 2° avant l'addition du carbonate de sodium et du chlorure de calcium ; 3° après cette addition ; 4° le jour de la récolte des plantes.

§ 5. — Durée des cultures, récoltes, lavage et séchage des plantes.

a) *Durée des cultures.* — Nous avons cultivé trois séries de plantes ou six groupes. Ces cultures ont été faites en trois époques de végétation :

La première série, la plus précoce, a été mise à

1. E. G. Minima, *Sur l'acidité des sécrétions radiculaires* (En Russe). (Bull. Inst. Rec. Biol. Univ. Perm, 1927, V, 233-258, 9 tab). Analysé dans l'année Biol. 1926-1927, VI, I, p. 615.)

2. Ch. O. Guillaumin, *Journ. Pharm. Chim.*, 7^e série, 1922, t. 25, p. 221.

germer le 27 mars 1926 ; le 16 avril, les plantes, qui avaient une grandeur suffisante, ont été placées dans des flacons de culture ; le 8 juin, après 9 semaines de végétation (65 jours), nous avons commencé à ajouter la plus petite dose des sels : de 0 gr. 2 à 1 gr. de carbonate de sodium et 4 à 16 gr. de chlorure de calcium, par flacon de 2 litres.

La deuxième série a été préparée pour une plus longue durée de végétation ; commencée plus tard le 21 avril 1926, et mise dans des flacons de culture plus grands (3 et 5 litres) le 25 mai. Après 13 semaines de végétation, le 22 juillet, nous avons ajouté des doses plus fortes des sels : 2 à 5 gr. de carbonate de sodium et 32 à 60 gr. de chlorure de calcium par flacon de 5 litres. Ces séries de culture ont reçu plus tard la solution nutritive (1 litre par flacon).

La troisième série a été plus tardive encore. Nous avons mis les graines à germer le 1^{er} mai 1926 et ensuite dans des flacons de culture le 1^{er} juillet ; après 7 semaines de végétation, le 24 juillet, nous avons ajouté nos sels à la dose maxima : 2 gr. 5 à 4 gr. de carbonate de sodium et 30 à 60 gr. de chlorure de calcium par flacon de 2 litres.

b) *Récolte des plantes.* — Les plantes qui avaient atteint un développement suffisant et qui avaient subi l'influence des sels ajoutés (CaCl^2 et CO^3Na^3) ont été récoltées.

La première série a été récoltée le 28 juin 1926, après 12 semaines de végétation.

La deuxième série a été récoltée le 19 septembre 1926, après 17 semaines de végétation.

La troisième série a été récoltée le 14 septembre 1926, après 11 semaines de végétation.

c) *Lavage des plantes récoltées.* — Les plantes que nous avons retirées des flacons de culture ont été soumises à un lavage soigné afin d'en retirer les sels qui s'étaient déposés sur les racines. Ce lavage a été effectué à l'eau courante pendant une demi-heure ; pour finir, nous avons passé à l'eau distillée, et enfin nous avons essoré les racines dans du papier buvard.

d) *Séchage des plantes.* — Les plantes lavées, essorées et découpées en fragments ont été placées au soleil pendant un jour pour arrêter la fonction chlorophyllienne. Le jour suivant, nous avons desséché nos plantes à la température d'environ 100°. Cette dissiccation à une température aussi élevée avait pour but d'éviter la décomposition des acides formés au cours de la végétation. Il a fallu 6 heures pour que les plantes devinssent complètement sèches. Les plantes ont été ensuite pesées et conservées dans des flacons jusqu'au mois de novembre 1926, époque où nous avons commencé nos analyses.

§ 6. — Méthode d'analyse.

Lorsqu'on se propose de doser les acides organiques non volatils (oxalique, citrique, malique, tartrique), le choix de la méthode est embarrassant. En effet, il en existe plusieurs, mais toutes sont loin

d'être bonnes. La difficulté est aussi grande, lorsqu'il s'agit de séparer les acides organiques propres à une plante déterminée.

La méthode la plus ancienne et qui est classique est celle de Dragendorff (1).

E. Aubert (2), dans ses recherches sur les acides organiques dans les Crassulacées, précipite les acides de la solution par l'acétate de plomb, les libère avec l'hydrogène sulfuré, et les sépare avec de la chaux dans la solution alcoolique.

Berg et Gerber (3) apportèrent à cette méthode des modifications pour rechercher les acides alcools, en utilisant Fe^2Cl^6 .

M. Albahary (4) a donné une méthode pour le dosage et la séparation des acides organiques : Il épuise les matières grasses, colorantes, etc., par le chloroforme et l'éther, ensuite par l'alcool, et enfin il évapore et dose avec de la soude, c'est ce qui lui donne la teneur en acides libres. Les acides insolubles et combinés, qui restent dans la matière, sont dissous par l'acide chlorhydrique, puis précipités avec l'acétate de plomb et libérés par l'hydro-

1. G. Dragendorff, *Encyclopédie chimique de Fremy*, 1885, t. 10, p. 212.

2. E. Aubert, *Sur la répartition des acides organiques dans les plantes grasses* (*Revue gén. de Botanique*, 1893, t. 2, p. 369).

3. A. Berg et C. Gerber, *Sur la recherche des acides organiques dans quelques Mesembryanthémées* (*Revue gén. de Botan.*, 1896, t. 8, p. 295.).

4. M. Albahary, *Nouvelle méthode de séparation et dosage des acides organiques dans les fruits et les légumes* (*C. R. Ac. Sc.*, 1907, t. 144, p. 1232).

gène sulfuré, enfin on les sépare comme dans le procédé classique.

Dans ces méthodes, on sépare les acides précipités et libérés grâce à des différences de concentration de l'alcool.

On utilise également pour doser les acides organiques fixés dans la plante, le dosage des alcalis des cendres. La méthode a été indiquée par Berthelot et André. Elle a été employée par de nombreux auteurs. Astruc (1) l'a employée dans ses recherches sur les acides organiques de la plante.

Passant en revue ces différentes méthodes, nous avons décidé de nous borner à la mesure en bloc des acides organiques.

Pour précipiter les acides organiques nous nous sommes servi de bromure de baryum en solution alcoolique à 5 % dans l'alcool à 85 %. Ce sel avait déjà été employé par F. Muttelet (2). Le bromure de baryum précipite outre les acides organiques, les acides phosphorique et sulfurique qui ont passé en même temps en solution lorsque la plante a été épuisée par l'eau.

Tout d'abord, pour nous rendre compte de la valeur de la méthode au bromure de baryum, nous avons fait les essais à blanc sur un mélange d'acides organiques et notamment : oxalique, citrique et malique.

1. *Loc. cit.*

2. F. Muttelet, *Etudes sur l'acidité des jus de fruits. Ann. des Falsifications*, 1909, t. 10, p. 383.

Dans ce but nous avons mélangé :

	o g. 535 d'ac. oxalique
o g. 537 d'acide malique qui cor-	
resp. à.....	o g. 504 —
o g. 476 d'acide citrique qui cor-	
resp. à.....	o g. 516 —
Total.....	1 g. 555

Ce mélange a été dissous dans 100 cm³. d'eau et titré sur 10 cm³. avec de la potasse, puis amené à un titre alcoolique de 75° et additionné de Br²Ba. Le précipité obtenu lavé, séché et calciné comme en l p. 41 nous donne le poids de So⁴Ba que nous calculons en acide oxalique.

Les résultats obtenus ont permis d'adopter la méthode dont nous donnerons les détails dans la suite.

D'autre part, nous avons fait 10 analyses de plantes en examinant le précipité obtenu avec le bromure de baryum (comme dans les cas Ia, IIb, IIb p. 39). Ces analyses ont été faites pour rechercher l'acide phosphorique précipité par le bromure de baryum.

Le précipité lavé et séché a été légèrement calciné pour détruire les acides organiques qui gênent dans le dosage du phosphore. Après calcination du précipité nous l'avons traité par l'acide nitrique dilué de son volume d'eau, puis nous avons filtré. Ensuite nous avons procédé d'après la méthode de Wog en employant le réactif molybdique pour précipiter le phosphore, et les quantités obtenues ont été calculées en acide oxalique.

Le poids du précipité calculé pour 1 g. de matière sèche, multiplié par le coefficient 5.281, nous donne l'acide phosphorique pour 100 g. de matière sèche ; pour évaluer l'acide phosphorique en acide oxalique nous avons multiplié le résultat par 1.377 en tenant compte que deux molécules d'acide phosphorique correspondent à trois molécules d'acide oxalique.

Le dosage de *l'acide sulfurique* a été effectué aussi sur 10 plantes avec la solution de l'extrait aqueux et avec l'extrait chlorhydrique (I et II p. 41 et 42). Ces solutions ont été traitées avec 2 cm³. d'acide chlorhydrique pour 100 cm³. de liquide et portées à l'ébullition pendant une heure.

Ensuite nous avons ajouté du sel de baryum pour précipiter l'acide sulfurique. Le précipité est lavé, calciné puis pesé ; le poids obtenu multiplié par 38,63 nous a donné la quantité d'acide oxalique pour 100 g. de matière sèche. La quantité d'acide phosphorique et sulfurique ainsi calculée et divisée par 10 pour avoir la moyenne a été retranchée de la quantité totale des acides obtenue avec notre méthode, cette quantité nous a donnée *les acides organiques* de la plante.

Comme le montre le tableau, la quantité d'acide phosphorique oscille entre 0 g. 176 et 0 g. 217 pour 100 g. de matière sèche, ce qui fait 0 g. 232 à 0 g. 299 d'acide oxalique.

Les quantités de sulfate de baryum correspondent à 0 g. 069 et 0 g. 108 d'acide oxalique.

En examinant l'acide oxalique total correspondant aux acides phosphorique et sulfurique, nous voyons qu'on a entre 0 g. 301 et 0 g. 392; en prenant la moyenne sur 10 plantes nous trouvons 0 g. 360 pour 100 g. de matière sèche;

Quantités d'acides phosphorique et sulfurique
calculées en acide oxalique.

N°	Poids de $\text{PO}(\text{MoO}_3)^{12/103}$ dans 1 g. de m. sèche	PO_4H_3 p. 100 g.	$\text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2$ p. 100 g. correspon- dant à PO_4H_3	Poids de SO_4Ba dans 1 g. de m. sèche	$\text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2$ p. 100 g. correspon- dant à SO_4H^2	Poids total de $\text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2$ p. 100	Moyenne
21	0,0411	0,217	0,299	0,0024	0,093	0,392	
21	0,0388	0,205	0,282	0,0028	0,108	0,390	
26	0,0369	0,195	0,268	0,0024	0,093	0,361	
26	0,0378	0,200	0,275	0,0027	0,106	0,381	
34	0,0390	0,206	0,284	0,0021	0,081	0,365	
34	0,0409	0,216	0,295	0,0018	0,069	0,364	
35	0,0370	0,195	0,268	0,0022	0,084	0,342	
35	0,0382	0,202	0,277	0,0019	0,073	0,350	
36	0,0339	0,179	0,245	0,0028	0,108	0,353	
36	0,0334	0,176	0,232	0,0018	0,069	0,301	0,360 %

Il est utile de mentionner que nous trouvons des chiffres voisins de ceux donnés par G. André (1).

1. G. André, *Chimie Agricole, Chimie végétale*. Paris, 1909
p. 386.

Pour l'acide sulfurique, entre 3 et 18 g. pour 100, et pour l'acide phosphorique, entre 8 et 25 g. pour 100 g. de cendres. Les quantités d'acide sulfurique que nous trouvons varient entre 6 g. 04 et 9 g. 41 pour 100 g. de cendres, et pour l'acide phosphorique entre 14 g. 32 et 19 g. 36 pour 100 g. de cendres.

Nous obtenons ces résultats en calculant la matière sèche en poids de cendres. Pour cela nous avons brûlé la matière et trouvé qu'elle perd 80 pour cent. Il suffit donc de multiplier les quantités trouvées par 80.

Le bromure de baryum pouvait encore précipiter des silicates qu'on trouve généralement chez les végétaux. De ce côté nous avons voulu également nous assurer contre la possibilité d'une erreur. Nous avons donc cherché la silice, mais la quantité trouvée, fort minime, ne pouvait pas influencer nos résultats dans le dosage des acides organiques.

A. PRINCIPE DE LA MÉTHODE.

Voici donc comment nous avons opéré :

1) *Acides solubles.* — *Extrait aqueux.* — a) L'extrait aqueux de la plante est neutralisé par la potasse décimorale en présence de la phtaléine, ce qui donne les acides libres et des traces d'autres corps précipités par la potasse.

b) On ajoute alors de l'alcool en quantité suffisante pour avoir un titre de 75° et l'on verse une solution alcoolique de bromure de baryum (à 5 %

dans l'alcool à 85°) qui précipite les acides libres et combinés.

c) On filtre et on lave ; le filtre et son contenu sont calcinés d'abord seuls, puis en présence d'un peu d'ac. sulfurique, qui donne une quantité de sulfate de baryum correspondant aux acides libres et solubles cherchés.

II) *Acides insolubilisés dans la plante.* — Extrait chlorhydrique. Après qu'on en a fait l'extrait, la plante est traitée par l'ac. chlorhydrique et le liquide ainsi obtenu est neutralisé.

a) Il se forme alors un précipité de sels de calcium correspondant aux acides fixés dans la plante ; le lendemain ce précipité est filtré, puis calciné en présence d'ac. sulfurique et pesé, ce qui permet d'évaluer les acides combinés au calcium.

b) Le filtrat alcoolique, traité comme en Ib par le bromure de baryum donne les restes des acides non combinés au calcium.

B. MODE OPÉRATOIRE.

Acides solubles. — Ayant donné le principe, nous allons maintenant décrire en détail la manière dont nous avons procédé :

1° La plante bien sèche est finement broyée et mise à macérer dans l'eau au B. M. à 90° pendant 2 heures ; on filtre, puis on lave jusqu'à ce que le liquide de lavage ne soit plus acide au tournesol.

Le filtrat et les eaux de lavage réunis contien-

nent les acides solubles, ils sont concentrés par distillation sous pression réduite.

Le liquide restant est alors titré par la potasse décimormale, ce qui donne la teneur en acides libres. Comme ce liquide était très coloré, nous n'avons pu voir le virage de la phtaléine qu'à la touche.

2° Nous avons obtenu ainsi 100 cm³. de solution neutralisée ; nous ajoutons alors 300 cm³. d'alcool à 95°, puis du bromure de baryum en excès, qui précipite les acides libres et combinés. Nous laissons reposer jusqu'au lendemain, nous filtrons et lavons avec de l'alcool à 75°. Nous avons donc, réunis sur le filtre, les acides libres et les acides combinés.

3° Il ne nous restait alors qu'à calciner le tout en présence d'un peu d'acide sulfurique pour avoir une quantité de sulfate de baryum correspondant aux acides solubles totaux que nous cherchions.

Acides insolubles. — Pour avoir les acides qui sont insolubilisés dans la plante même, à l'état de sel de calcium, nous avons opéré de la manière suivante :

La plante épuisée précédemment par l'eau était traitée avec 2 à 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré, et laissée à digérer pendant une nuit. Le lendemain, lavage à l'eau chaude, puis concentration des eaux de lavage dans le vide.

Les 20 à 40 cm³ de liquide ainsi obtenus ont été neutralisés par de la potasse en présence de phtaléine, on y a ajouté 2 à 3 volumes d'alcool à 95°, on

obtient alors un précipité de sels de calcium que nous traitons comme nous l'avons dit en 3°, et qui nous donne les acides fixés au calcium.

Quant au filtrat, si nous lui ajoutons du bromure de baryum à 5 % et si nous continuons comme en 2°, nous obtenons alors le reste des acides fixés.

Dans tous les cas, le poids du sulfate de baryum obtenu, multiplié par 38,63 et divisé par le poids de la plante, nous donnait en acide oxalique la teneur pour 100 g. d'acide dans la plante ; pour le sulfate de calcium il fallait multiplier par 66,48.

L'addition des résultats des diverses opérations nous donnait la totalité des acides organiques de la plante exprimés en acide oxalique y compris les acides phosphorique et sulfurique dont nous avons tenu compte.

La moyenne pour ces deux acides minéraux est 0 g. 360 pour 100 g. de matière sèche. En retranchant cette quantité du total des acides nous aurons les chiffres qui représenteront les *acides organiques* exprimés en acide oxalique, pour 100 g. de matière sèche ; ces résultats sont présentés dans la IX^e colonne des tableaux d'analyses.

DEUXIÈME PARTIE

II. — RÉSULTATS

§ 1. — Résultats des mesures de transpiration.

Après avoir additionné les liquides nutritifs de carbonate de sodium et de chlorure de calcium, nous avons pesé fréquemment nos plantes de manière à connaître la quantité d'eau transpirée. Nous avons étudié ainsi la deuxième série pendant 22 jours ; la troisième pendant 11 jours, série qui avaient été traitées par le carbonate de sodium ; et pendant 20 jours pour celles qui avaient été traitées par le chlorure de calcium.

a) *Deuxième série. — Cultures avec du carbonate de sodium.* — Cultures dans des flacons de 5 litres. Comparons cette transpiration avec le témoin. On constate que les plantes traitées transpirent moins. Par exemple, le témoin a perdu pendant 22 jours, en totalité 1 kg. 907, ou 69 g. 6 par gramme de matière sèche, tandis que les plantes, qui ont reçu le carbonate de sodium ont transpiré de 1 kg. 360 à 1 kg. 525, ou entre 58 g. 6 et 62 g. 6 par gramme de matière sèche.

b) *Deuxième série. — Cultures avec du chlorure de*

calcium en flacons de 5 litres. — Ici, la transpiration est plus faible. Le témoin a perdu 1 kg. 426 en totalité ou 61 g. 2 par gramme de matière sèche. Les plantes auxquelles on a ajouté le sel ont transpiré moins, comme dans le premier cas, c'est-à-dire de 0 kg. 930 à 1 kg. 065, ou de 25 g. 1 à 48 g. 7 par gramme de matière sèche.

a) *Troisième série.* — *Cultures avec du carbonate de sodium* dans des flacons de 2 litres. La transpiration a été mesurée pendant 11 jours. Les témoins ont transpiré au bout de ce temps de 380 g. à 395 g. d'eau, par plante, soit 42 g. 5 à 52 g. 6, par gramme de matière sèche. Les plantes qui ont reçu du carbonate de sodium ont transpiré seulement de 197 g. à 242 g., chacune soit 30 g. 4 à 40 g. 2 par gramme de matière sèche.

b) *Troisième série.* — *Cultures avec du chlorure de calcium* en flacons de 2 litres. Pour les témoins la transpiration a été de 693 g. à 726 g., par plante pendant 20 jours, soit 73 g. à 80 g., par gramme de matière sèche.

On voit nettement que les sels, soit le carbonate de sodium, soit le chlorure de calcium, même à la quantité de 2g. pour 5 litres de liquide nutritif, diminuent la transpiration. Outre cela, il faut souligner également que cette diminution de la transpiration est assez brusque pour les petites doses des sels et qu'elle est moins brusque, si l'on augmente les doses jusqu'au maximum. Dans ce cas, la transpiration est plus grande. On peut constater

cela avec les plantes qui ont reçu une plus grande quantité de sel et qui ont manifesté des signes de dépérissement.

§ 2. — Mesure du pH.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous avons jugé utile de voir comment variait le pH pendant nos expériences. Nous avons fait ces mesures dès le premier jour de culture pour la 2^e série ; dans le liquide nutritif employé dans les expériences avec du carbonate de sodium, le pH variait de 8,75 à 8,90 ; dans le liquide destiné aux expériences avec du chlorure de calcium, où l'aliment azoté était sous forme d'azotate de calcium, le pH était un peu moins élevé ; 8,35 à 8,45.

a) *Le pH de la première série avec carbonate de sodium* a été mesuré quatre fois. La première fois, le 22 et le 25 mai 1926, après un mois de séjour des plantes dans les flacons, nous avons trouvé que le pH était devenu plus faible que celui du début (2^e série), il variait entre 7,70 et 8,15. La deuxième fois, nous avons mesuré le pH avant l'addition du sel alcalin et nous trouvâmes qu'il avait encore diminué, il était entre 7,40 et 7,75.

Nous avons ajouté des doses différentes de carbonate de sodium dans 6 flacons : deux flacons ont reçu chacun 0 g.2 ; deux autres 0 g.5, et enfin deux autres 1g., et nous en avons conservé deux sans addition de sel, comme témoins.

N°	pH après 1 mois de culture	pH avant l'addition	Sel ajouté en g.	pH après l'addition	pH le jour de la récolte	Poids de la plante sèche en g.
Ier série avec CO_3Na^2 . Flacons de 2 litres						
Témoins { N° 2 N° 3	25. V »	8,45 8,05	8. VI »	7,75 7,65	28. VI 23. VI	4,43 3,25
N° 4 N° 5 N° 6 N° 7 N° 8 N° 9	22. V » » » 25. V »	7,70 7,90 8,00 8,00 7,90 7,80	8. VI » 42. VI » 46. VI »	CO_3Na^2 0 g. 2 » 0 g. 5 » 1 g. » 7,40	19. VI » 23. VI » 28. VI »	2,94 2,33 2,42 2,02 3,42 3,70
				8. VI » 12. VI » 16. VI »	7,75 7,80 7,90 7,85 8,80 8,70	
Ire série avec $\text{CaCl}^2 6\text{H}^2\text{O}$. Flacons de 2 litres						
Témoins { N° 11 N° 12	29. V »	7,65 7,85	8. VI »	7,45 7,65	23. VI 28. VI	2,75 3,90
N° 13 N° 14 N° 15 N° 16 N° 17 N° 18	» » » » » »	7,65 7,80 7,75 7,75 7,80 7,95	» » 42. VI » 16. VI »	$\text{CaCl}^2 6\text{H}^2\text{O}$ 4 g. » 8 g. » 16 g. 16 g.	19. VI » 23. VI » 28. VI »	2,27 2,48 2,50 2,08 2,75 2,87
				8. VI » 12. VI » 16. VI »	6,80 7,30 7,50 7,45 7,70 8,10	

Le même jour, le pH trouvé, était, naturellement, plus élevé qu'avant cette addition : avec la plus petite dose, 0g.2 de carbonate de sodium on trouve pH 8,95 et 9,05 ; avec la dose de 0 g.5, 9,45 et 9,50. Le pH n'a pu être déterminé avec notre méthode pour la dose de 1 g.

Par ce fait nous avons rendu nos liquides de culture très alcalins. Dix jours plus tard, nous voulions savoir comment avait varié le pH et nous trouvâmes que les plantes l'avaient abaissé. On constate, en effet, que le pH de la première dose est tombé à 7,75 et 7,80 ; de la deuxième, à 7,90 et à 7,85 ; et de la troisième, à 8,80 et 8,70. Le pH des témoins était 7,35 et 7,25.

b) *Première série de cultures avec chlorure de calcium.* — Nous avons mesuré le pH aux mêmes dates et un même nombre de fois que dans la série précédente. La première fois, nous avons trouvé un pH de 7,65 à 7,95. Nous devions tout de suite remarquer que le pH de cette série était moins élevé. La deuxième fois, avant l'addition du chlorure de calcium le pH était entre 7,45 et 7,80. Après l'addition de ce sel dans 6 flacons le pH s'est abaissé, par suite de la légère acidité du chlorure de calcium impur du commerce, que nous n'avons pas pu enlever totalement, nous eûmes, pour les deux premiers flacons avec une dose de 4 g. par flacon de 2 litres, pH 7,35 et 7,45 ; pour la deuxième dose de 8 g. le pH était 7,30 et 7,60, et enfin, pour les derniers flacons nous avons ajouté 16 g. de

	pH dès le début de la culture	pH avant l'addition du sel	Sel ajouté en g.	pH après l'addition	pH le jour de la récolte	Poids en g. de la plante sèche
II ^e série (5 litres) avec CO ³ Na ²						
Témoins N° 23	26. V	22. VII	7,25	24. VII	18. VIII	27,40
N° 22	»	»	7,35	»	»	26,00
N° 21	»	»	7,35	»	»	24,19
N° 24	»	»	7,65	»	»	22,60
II ^e série (5 litres) avec CaCl ² 6H ² O						
Témoins N° 33	27. V	24. VII	7,45	24. VII	19. VIII	23,30
N° 31	»	22. VII	7,55	»	»	21,87
N° 34	»	»	7,40	»	»	20,75
N° 32	»	»	7,60	»	»	19,72

chlorure de calcium et le pH fut 7,55 et 7,50. Avant la récolte, nous avons mesuré nos pH, mais les chiffres obtenus pour cette série ne permettent de tirer aucune conclusion.

A cette époque, nous avons pensé que l'action des sels ajoutés était terminée et nous avons récolté nos plantes.

En examinant le tableau de la première série, on voit que les plantes dans les deux cas ont tendance à abaisser le pH aussi bien avant l'addition du carbonate de sodium qu'après cette addition. Nous constatons aussi une diminution régulière du pH, avant l'addition du chlorure de calcium (Voir le tableau de pH de la première série).

a) *pH de la deuxième série (dans des flacons de 5 litres) avec carbonate de sodium.* — Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, le pH a été déterminé pour cette série, dès le début de la culture. Un mois plus tard, ce pH a baissé, comme dans le cas de la première série. Nous l'avons mesuré le 22 juillet 1926, puis après l'addition du carbonate de sodium. A ce moment, il avait augmenté jusqu'à 9,20 pour une dose de 2 g. par 5 litres ; à 9,25, pour une dose de 2 g. 5. Pour une dose de 5 g. par 5 litres de liquide nutritif nous n'avons pas pu déterminer le pH par notre méthode. Le témoin avait à ce moment un pH de 7,30. Le 18 septembre, nous avons récolté nos plantes à l'époque de la pleine floraison que nous avions pu obtenir avec nos cultures synthétiques. Le jour de

la récolte, nous avons déterminé aussi le pH : seul le témoin avait pH 7,90, c'est-à-dire que son liquide était devenu alcalin, au cours de la culture, sans aucune addition de sel. Avec la petite dose de sel le pH était de 8,55, avec la moyenne 8,35 et avec la plus grande 8,55. Autrement dit, ce pH n'a pas présenté de différences sensibles, entre les plantes additionnées de sel.

b) *pH de la deuxième série avec chlorure de calcium.* — Le 24 juillet, après un mois de culture, le pH est passé à 7,45 et 7,60. A cette date, nous avons ajouté du chlorure de calcium. Nous voyons que le témoin a un pH de 7,45. La plante traitée avec 32 g. n'a que 6,80 ; celle qui a reçu 48 g. a 6,60, et enfin, pour une dose de 60 g. le pH est 6,40. Nous étions donc en milieu légèrement acide.

Nous avons voulu savoir comment variait ce pH ; pour cela, nous l'avons déterminé le 19 septembre, c'est-à-dire après trois semaines. Ce jour-là, nous avons constaté que toutes nos plantes avaient alcalinisé le liquide. Le pH du témoin était de 7,55, et celui de la culture, qui avait reçu la petite dose de sel : 7,15. Avec la dose moyenne, la plante avait aussi augmenté son pH, mais très légèrement : 6,35 et la dernière avait : 6,75.

Les résultats que nous pouvons tirer de la détermination du pH de cette série, sont les suivants : Le témoin de la série avec le carbonate de sodium a neutralisé tout d'abord son milieu jusqu'au 22 juillet de 8,75 à 7,25, puis le pH monte car le témoin

	pH avant l'addition de sel	Sel ajouté en g.	pH avant l'addition	pH le jour de la récolte	Poids en g. de m. sèche
III ^e série avec CO^2Na^2 . Flacons de 2 litres					
Témoins { N ^o 45 N ^o 47	7,30			5. VIII	7,51
	7,30			»	8,95
N ^o 43	24. VII	$\frac{\text{CO}^2\text{Na}^2}{2 \text{ g. } 5}$	24. VII		6,02
N ^o 48	»	»	»		6,48
N ^o 42	7,45	4 g.		9,45	6,00
N ^o 46	7,40	»		9,50	5,56
III ^e série avec $\text{CaCl}^2 \text{ 6H}^2\text{O}$. Flacons de 2 litres					
Témoins { N ^o 58 N ^o 59	7,30			14. VIII	9,50
	7,35			»	9,10
N ^o 51	24. VII	$\frac{\text{CaCl}^2 6\text{H}^2\text{O}}{30 \text{ g.}}$	24. VII		7,83
N ^o 54	»	»	»		7,07
N ^o 53	7,00	60 g.	27. VII	6,90	6,90
N ^o 57	7,05	»	»	6,90	7,84

alcalinise son liquide, et, à la fin de la végétation, le pH est 7,90. Les plantes traitées par les sels présentaient aussi le même phénomène de neutralisation, avant et après l'addition de sel.

Le témoin de *la série avec le chlorure de calcium* neutralisait son milieu, mais plus lentement que celui de la série au carbonate. Les plantes traitées le neutralisent aussi jusqu'au jour où le pH du milieu devient trop faible. A ce moment, elles alcalinisent leur liquide pour dépasser un peu la neutralité.

a) *pH de la troisième série dans les flacons de 2 litres, avec carbonate de sodium.* — Nous avons déterminé dans les séries précédentes le pH dès le début de la culture et, ensuite, après un mois de culture. Ici nous nous sommes bornés à le mesurer avant l'addition du sel. Voici ce que nous avons trouvé :

Le 24 juillet, le pH, avant l'addition du carbonate de sodium oscillait entre 7,30 et 7,45. Par cette addition, nous avons augmenté sensiblement l'alcalinité du liquide. Dans le premier cas, avec une dose de 2 g. 5 de carbonate de sodium, nous avons obtenu 9,80. Dans les deux dernières plantes, où nous avons forcé la dose de carbonate de sodium au maximum, à 4 g., nous n'avons pu mesurer nos pH avec la méthode de Sørensen et il ne nous a pas paru indiqué de recourir à d'autres déterminations.

Le jour de la récolte, nous avons trouvé que les

témoins avaient une très faible alcalinité, 7,20, et que les plantes traitées avait neutralisé aussi leur milieu.

b) *pH de la troisième série : culture avec du chlorure de calcium.* — Le jour de l'addition du chlorure de calcium le pH trouvé était de 7,00 à 7,35. L'addition de sel fait baisser légèrement le pH et nous constatons que les plantes avec 30 g. ont pH 7,00 et 7,05 ; et celles avec la dose maxima 60 g. ont un pH de 6,60 et 6,80.

Le jour de la récolte, le 14 septembre, nous avons trouvé une augmentation du pH dans tous les cas. Les témoins avaient 7,45 et 7,85, et les autres, avec la dose plus faible, 7,25 et 7,15. Avec la plus forte dose, le pH était de 6,90.

Comme dans les séries précédentes, le liquide a été neutralisé dans tous les cas où il a dépassé le chiffre supérieur à 7,20, et alcalinisé, si le pH était inférieur à ce chiffre.

Voici les conclusions qui se dégagent de nos déterminations du pH :

1° Le liquide nutritif des plantes témoins a été neutralisé dans tous les cas, par exemple : de 8,75 du liquide primitif à 7,90, dans la deuxième série ; et à 7,20, pour les témoins de la troisième série.

2° Aussitôt devenu neutre (7,20), le liquide a été alcalinisé par toutes les plantes témoins. On le voit par exemple, d'après le tableau qui résume les mesures du pH, du début à la fin de la culture de la deuxième série.

3° Le milieu nutritif des plantes, qui reçut du carbonate de sodium, était neutralisé et tendait vers l'alcalinité normale. Cette neutralisation a été plus énergique là où la dose du sel a été plus forte (Voir le tableau de la première série).

4° Le milieu nutritif des plantes qui reçut le chlorure de calcium devint très peu acide. Dans ce cas de faible acidité, les plantes ont alcalinisé le milieu, pour avoir le pH normal qui est un peu supérieur à 7,00 pour les cultures du Maïs.

5° Il se dégage de nos observations sur le pH du liquide nutritif que la solution définie par P. Mazé, c'est-à-dire celle que nous avons employée, est trop alcaline pour les cultures aseptiques du Maïs. Elle a pour pH 8,75 à 8,90. Son alcalinité ne devrait pas dépasser pH 8,00 puisque la plante elle-même ne l'alcalinisait pas au-dessus de 7,90, ce que nous avons observé pendant toute la durée de végétation (première série).

§ 3. — Comparaison entre la durée de la vie des plantes et les doses des sels ajoutés.

Examinons maintenant l'influence des sels CO^3Na^2 et CaCl^2 sur la durée de la vie des plantes.

a) Pour les plantes de la *première série*, les doses de sels ajoutés étaient les plus faibles. C'est là que les plantes se sont le moins développées. Cette série de culture a été commencée peu avant la végétation

normale. En ajoutant du carbonate de sodium et du chlorure de calcium, nous avons obtenu un milieu moins favorable, qui se manifeste par le flétrissement des feuilles au bout de 10 jours d'action des sels, avec 1 g. de carbonate de sodium, et 16 g. de chlorure de calcium dans des flacons de deux litres, soit 0 g. 5 de carbonate de sodium et 8 g. de chlorure de calcium par litre.

b) Les doses de la *deuxième série* furent plus fortes, mais les plantes que nous traitions étaient également plus robustes. Nous avons ajouté 5 g. de carbonate de sodium et 60 g. de chlorure de calcium, soit 1 g. de carbonate de sodium et 12 g. de chlorure de calcium par litre, en doublant ainsi la dose. Dans ce cas, nous avons seulement observé que chaque plante perdait une ou deux feuilles dans les premiers jours d'action des sels. Mais les plantes ont pu supporter l'action nuisible des sels jusqu'à la récolte. Cette résistance est due à la force plus grande des plantes qui étaient plus développées que celles de la série précédente.

c) Dans le cas de la *troisième série*, nous avons augmenté encore les doses de sels, et nous avons atteint le maximum de résistance du Maïs à l'action défavorable d'un excès de sels.

Ce maximum est entre 2 et 4 g. de carbonate de sodium par flacon de 2 litres, ou entre 1 et 2 g. par litre ; et pour le chlorure de calcium ce maximum de résistance est entre 30 et 60 g. par flacon de 2 litres, ou entre 15 et 30 g. par litre de solution nutritive.

Toutes les plantes qui ont reçu les doses maxima de sels présentaient des signes de mort au bout de 10 jours d'expérience, c'est-à-dire le temps que nous avons admis pour l'observation des séries précédentes. Toutes les plantes après avoir subi l'action des sels ajoutés, ont été récoltées et analysées.

Il se dégage de ce que nous venons de dire que l'action des sels se fait sentir d'autant plus facilement que le poids de la plante est moins élevé ; pour cela, il suffit de comparer le poids de la matière sèche.

Le poids de la matière sèche de la première série variait entre 2 g. 02 et 4 g. 43 ; celui de la deuxième série, entre 19 g. 72 et 27,40 et, enfin celui de la troisième série était plus fort que celui de la première ; il variait entre 5 g. 56 et 9 g. 50.

§ 4. — Influence des sels ajoutés sur le développement des plantes.

Tout d'abord, nous remarquons que les plantes qui ont servi de témoins ont un poids de matière sèche sensiblement plus élevé.

Première série. — Traitées avec le carbonate de sodium à la dose de 0 g. 2 à 1 g. par 2 litres de solution, les plantes de cette série ont un poids moins grand que celui des témoins. Les témoins pèsent l'un 4 g. 43 et l'autre 3 g. 25, tandis que les plantes dont le milieu a reçu 0 g. 2 ne pèsent que 2 g. 94 et 2 g. 33 ; avec une dose de 0 g. 5 le

poids est 2 g. 42 et 2 g. 02 ; et enfin, avec 4 g. il est de 3 g. 42 et 3 g. 70.

La même série traitée avec le chlorure de calcium nous donne les poids suivants :

Les témoins sont aussi plus développés que les autres plantes ; ils pèsent 2 g. 75 et 3 g. 90. Les plantes traitées avec 4 g. de sel par 2 litres pèsent 2 g. 27 et 2 g. 48 ; avec une dose plus forte elles pèsent 2 g. 50 et 2 g. 08 et, enfin, avec 16 g. leur poids est 2 g. 75 et 2 g. 87.

La deuxième série a également des témoins plus forts. Pour la série avec du carbonate de sodium le témoin pèse 27 g. 40. Les plantes traitées ont toujours un poids moins élevé. Pour une dose de 2 g. par 5 litres le poids est 26 g. La plante qui a reçu 2 g. 5 pèse 24 g. 19 ; et celle qui a reçu 5 g. a un poids plus faible : 22 g. 60.

Dans le cas du chlorure de calcium, on observe les mêmes effets.

Le témoin est relativement lourd ; il pèse 23 g. 30 tandis que les plantes additionnées sont moins développées.

Avec une dose de 32 g. par 5 litres le poids est 21 g. 87. Si l'on porte la dose à 48 g., il descend à 20 g. 75 ; et si la dose est de 60 g., il tombe à 19 g. 72.

La troisième série accuse des résultats identiques à ceux qui ont été précédemment obtenus. Examinons la série avec le carbonate de sodium. On voit que les témoins ont un poids plus grand que

celui des plantes traitées avec le sel. Ils pèsent 7 g. 51 et 8 g. 95. Pour une dose de 2 g. 5 par 2 litres, le poids est 6 g. 02 et 6 g. 48, et pour la dose la plus forte : 4 g. par 2 litres, ce poids n'est que de 6 g. est de 5 g. 56.

La troisième série avec le chlorure de calcium présente la même particularité que les autres.

Les témoins pèsent 9 g. 50 et 9 g. 40 ; les plantes, qui ont été traitées avec 30 g. de chlorure de calcium ont un poids plus faible, 7 g. 83 et 7 g. 07. Avec 60 g. de sel il n'est que de 6 g. 90 et 7 g. 84.

On peut conclure des chiffres que nous venons de présenter que :

1° Les sels ajoutés même à faible dose (0 g. 2 de carbonate de sodium et 4 g. de chlorure de calcium) diminuent le développement de la plante.

2° Si l'on augmente les doses de carbonate de sodium ou de chlorure de calcium, on entrave d'autant plus le développement que la dose est plus forte.

Cela est bien visible d'après les tableaux de la deuxième et de la troisième série. La première ne peut être citée, parce que nous avons récolté ses plantes à des dates différentes.

§ 5. — Résultats du dosage des acides organiques.

Pour les dosages, nous avons choisi les plantes qui, au cours de la végétation, ne présentaient

aucune anomalie, pour être certain des résultats de nos analyses. Les analyses ont été faites d'après le procédé exposé dans la première partie de notre travail.

Nous donnons ci-contre, calculés en acide oxalique, les acides solubles, insolubles et totaux.

Nous indiquons d'abord les résultats de la deuxième série ; nous n'avons pas analysé les plantes de la première série à cause de leur poids, insuffisamment élevé pour la précision de notre méthode.

A. Deuxième série traitée avec du carbonate de sodium. — a) La colonne III nous indique les quantités d'acides organiques solubles libres et combinés : Le témoin n° 23 en contient 2 g. 281. La plante n° 22 cultivée en présence de 2 g. de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ contient 2 g. 152 d'acides ; la plante n° 24 en a encore moins, 1 g. 757. On voit que les quantités d'acides diminuent quand la dose de sel ajouté augmente.

Les colonnes IV et V nous indiquent les acides insolubles. Pour le témoin, le total des chiffres de ces deux colonnes est de 0 g. 561, tandis que les plantes traitées au carbonate contiennent une quantité d'acides plus faible ; par exemple celle cultivée en présence de 2 g. de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ renferme 0 g. 528 d'acides et l'autre, où la dose de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ était de 5 g., en renferme 0 g. 478. Nous trouvons ici également une diminution des acides.

La colonne VI indique les acides totaux de la plante ; pour le témoin nous trouvons 2 g. 843 d'acides ; pour la plante cultivée en présence de 2 g.

N.º	Poids d'acides dans la plante en g.						Acides pour 100 g. de m. sèche					
	Acides sol. dans l'eau			Ac. ins. dans l'eau		Total des Acides en g.	Poids de la plante en g. de m. sèche	Total des acides	Total des acides organiques	Total des acides solubles	Total des acides insolubles	
	Acides libres	Acides combinés	Ac. libr. + comb.	Sels de Ca	Sels de Ba							
						IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
II ^e Série (flacons de 5 l.) avec carbonate de sodium												
23	Témoin	0,506	4,775	2,281	0,389	0,561 (1)	2,843	27,40	10,37	10,01	8,32	2,05
22	2 g. CO ³ Na ²	0,342	4,810	2,452	0,500	0,528	2,681	26,00	10,31	9,95	8,28	2,03
24	5 g. CO ³ Na ²	0,189	4,568	1,757	0,357	0,478	2,235	22,60	9,89	9,53	7,78	2,41
II ^e Série (flacons de 5 l.) avec chlorure de calcium cristallisé												
33	Témoin	0,405	0,732	1,437	0,527	0,631	1,767	2,330	7,58	7,22	4,88	2,70
31	32 g. CaCl ²	0,144	0,880	1,024	0,664	0,927	1,951	21,87	8,71	8,35	4,67	4,24
32	60 g. CaCl ²	0,234	0,632	0,866	0,582	0,750	1,616	19,72	8,19	7,83	4,39	3,80

1. Les chiffres placés au milieu des colonnes IV et V représentent le total : sel de Ca + sel de Ba.

de CO^3Na^2 , 2 g. 684, et pour la dernière la quantité d'acides est de 2 g. 235.

La colonne VIII dont les résultats sont les plus importants, nous indique les quantités d'acides totaux en grammes pour 100 g. de matière sèche.

Le témoin qui est le plus acide, renferme 10 g. 37 d'acides pour 100, tandis que la plante cultivée au contact de 2 g. de CO^3Na^2 n'en contient que 10 g. 31 pour 100 ; et celle avec 5 g., 9 g. 89 pour 100 seulement.

La colonne IX nous indique les quantités d'acides organiques seuls, les acides minéraux étant déduits.

b) *Deuxième série traitée avec du chlorure de calcium.* — La colonne III du témoin n° 33 nous indique 1 g. 437 d'acides libres et combinés. La plante n° 31 cultivée en présence de 32 g. de CaCl^2 contient 1 g. 024. Celle n° 32, développée en présence de 60 g. de CaCl^2 , a 0 g. 866 d'acides libres et combinés. Nous constatons donc une diminution de ces acides.

Les colonnes IV et V indiquent les acides insolubles. Le témoin contient en tout 0 g. 634 ; la plante cultivée au contact de 32 g. de sel en a plus de 0 g. 927 ; et celle dont le milieu a reçu 60 g. de CaCl^2 renferme 0 g. 750 d'acides insolubles. Nous trouvons ici une augmentation des acides.

La colonne VIII nous indique, pour le témoin, 7 g. 58 pour 100 ; pour la plante développée au contact de 32 g. de CaCl^2 nous avons obtenu une quantité d'acides plus forte : 8 g. 71 pour 100 ; avec 60 g.

Nos	Poids d'acides dans la plante en g.						Poids de la plante en g.	Acides pour 100 g. de m. sèche					
	Acides sol. dans l'eau			Ac. ins. dans l'eau				Total des acides totaux en g.	Total des acides organiques	Total des acides solubles	Total des acides insol. en moyenne		
	Acides libres	Acides combinés	Ac. libr. et combinés	Sels de Ca	Sels de Ba								
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII		
III ^e série (flacons de 2 l.) avec carbonate de sodium													
45	Témoin	0,090	0,214	0,304	0,453	0,640	0,944	7,51	12,57	12,21	4,05	8,52	6,20
47	—	0,221	0,587	0,808	0,308	0,345	1,454	8,95	12,89	12,53	9,03	3,86	
43	2 gr. CO ³ Na ²	0,075	0,236	0,312	0,204	0,342	0,624	6,02	10,35	9,99	5,17	5,18	5,28
48	—	0,121	0,195	0,316	0,209	0,344	0,661	6,48	10,20	9,84	4,90	5,30	
42	4 g. CO ³ Na ²	0,102	0,217	0,318	0,073	0,136	0,454	6,00	7,57	7,21	5,31	2,26	2,62
46	—	0,054	0,268	0,322	0,088	0,166	0,488	5,56	8,77	8,41	5,78	2,99	

de sel la quantité d'acides est encore plus grande que celle du témoin : 8 g. 19 pour 100. C'est là que l'augmentation apparaît le mieux.

La colonne IX nous indique les acides organiques seuls.

En résumé, nous devons attirer ici l'attention sur ce fait que la quantité d'acides organiques des plantes cultivées en présence de carbonate de sodium est plus faible que celle du témoin.

Les plantes qui ont été cultivées en présence de chlorure de calcium ont une quantité d'acides plus élevée que celle du témoin.

B. *Troisième série avec du carbonate de sodium.*

— a) Les plantes de cette série étaient de poids moyen. Elles ont été cultivées dans des conditions plus favorables que celles de la première série, et enfin, en les traitant par les sels nous sommes arrivé à obtenir le maximum de résistance au CO^3Na^2 et au CaCl^2 . Les résultats que nous présentons sont les plus saisissants de notre travail.

La colonne III, comme nous l'avons dit plus haut, représente les acides solubles, libres et combinés. Les témoins en contiennent : le n° 45, 0 g. 304 et le n° 47, 0 g. 808. Les plantes dont le milieu a reçu 2 g. de CO^3Na^2 en renferment : le n° 43 0 g. 312 et le n° 48 avec la même quantité de CO^3Na^2 en contient 0 g. 316. Les plantes cultivées en présence de la dose la plus élevée, 4 g. de CO^3Na^2 contiennent les quantités d'acides suivantes : n° 42, 0 g. 318 et n° 46 0 g. 322.

Les colonnes IV et V représentent les acides insolubles précipités sous forme de sels de calcium et de baryum, au total : 0 g. 640 pour le 1^{er} et 0 g. 345 pour l'autre témoin. Les plantes développées au contact de 2 g. de CO_3Na^2 renferment l'une 0 g. 342 et l'autre 0 g. 344. Quand la dose de CO_3Na^2 était plus élevée, les acides insolubles étaient 0 g. 136 et 0 gr. 166. On voit que les quantités d'acides diminuent.

Dans la colonne VIII la quantité d'acides totale pour 100 des témoins est 12 g. 57 chez l'un et 12 g. 89 chez l'autre. La diminution est donc très sensible.

Chez les plantes dont le milieu a reçu 2 g. de CO_3Na^2 la quantité d'acides totale est plus faible que celle des témoins, 10 g. 35 et 10 g. 20 pour 100 g.

D'autre part, avec la dose la plus élevée de 4 g. de CO_3Na^2 les plantes ont une quantité d'acides encore plus faible. Celle-ci tombe à 7 g. 57 et 8 g. 77 pour 100 g. de matière sèche.

La colonne IX indique les acides organiques seuls.

La colonne X représente les acides solubles pour 100 g. ; l'examen des chiffres ne permet pas de tirer d'autre conclusion que celle-ci : la proportion des acides solubles ne semble pas avoir varié sous l'influence du sel.

La colonne XI nous indique les acides insolubles contenus dans la plante et exprimés aussi pour 100 g. de matière sèche. Cette colonne nous montre que les acides insolubles varient avec la dose du sel.

Pour le témoin elle est en effet 8 g. 52 et 3 g. 86 pour 100 g. de matière sèche.

Pour les plantes cultivées en présence de 2 g. de CO^3Na^2 , cette quantité d'acides est 5 g. 18 et 5 g. 30 pour 100 g. de matière sèche. Avec 4 g. de CO^3Na^2 , la quantité d'acides devient encore plus faible, 2 g. 26 et 2 g. 99 pour 100 g. de matière sèche.

La colonne XII exprime la quantité moyenne d'acides insolubles, 6 g. 20 pour le témoin, 5 g. 28 pour les plantes développées en présence de CO^3Na^2 ; et, enfin, 2 g. 62 pour une dose de 4 g. de CO^3Na^2 .

Il faut noter ici que, comme dans la deuxième série avec le carbonate de sodium, la quantité d'acides pour le témoin est plus forte que pour les plantes ayant subi l'action du sel; elle diminue si la dose du sel augmente.

b) *Troisième série traitée avec du chlorure de calcium.* — La colonne III, comme précédemment, nous indique les acides libres et combinés. Les témoins n° 58 et 52 renferment 0 g. 488 et 0 g. 592 d'acides. Les plantes qui ont subi l'action de 30 g. de CaCl^2 , les n° 51 et 54, renferment 0 g. 410 et 0 g. 393 d'acides; celles des n° 53 et 57 avec 60 g. de sel, 0 g. 419 et 0 g. 488. Cette colonne ne permet pas de tirer de conclusion.

Les colonnes IV et V indiquent les acides insolubles qui ont été précipités sous forme de sel de calcium et de baryum, et les résultats sont les suivants :

Pour les témoins 0 g. 311 et 0 g. 287. Avec 30 g. les plantes contiennent une quantité d'acides inso-

lubles plus élevée : 0 g. 404 et 0 g. 359 ; avec 60 g. de ce sel, 0 g. 415 et 0 g. 386. On voit que les acides ont sensiblement augmenté.

La colonne VIII exprime les acides totaux de la plante. Ce sont les résultats les plus importants.

Les témoins sont ici peu acides, 8 g. 41 pour l'un et 9 g. 76 pour l'autre pour 100 g. de matière sèche. Avec 30 g. de CaCl^2 la quantité d'acides est déjà plus forte 10 g. 38 et 10 g. 63. Avec la dose plus élevée de 60 g. de CaCl^2 nous trouvons 12 g. 08 et 11 g. 14 pour 100 g. de matière sèche.

L'augmentation des acides avec le CaCl^2 est frappante.

La colonne IX indique les acides organiques seuls.

Dans la colonne X, la quantité d'acides ne semble pas avoir varié bien régulièrement.

La colonne XI indique les acides insolubles pour 100, elle varie régulièrement.

Les témoins contiennent 3 g. 27 et 3 g. 15 pour 100. Avec 30 g. de CaCl^2 les plantes renferment une quantité d'acides plus élevée : 5 g. 16 et 5 g. 07. Avec 60 g. de CaCl^2 la quantité d'acides augmente encore jusqu'à 6 g. 02 et 4 g. 92 pour 100 g.

Dans la colonne XII ces résultats sont plus démonstratifs.

Chez les témoins la quantité d'acides insolubles est de 3 g. 21. Chez les plantes cultivées avec une dose de 30 g. de sel elle est de 5 g. 11 ; pour la dose maxima de sel elle est de 5 g. 47 pour 100 g. de matière sèche.

Il est indispensable de remarquer que dans la série traitée avec le CaCl_2 , la quantité d'acides totale est moins forte pour le témoin que pour les plantes avec le sel, et que ces changements portent sur les acides insolubles de la plante analysée.

Il se dégage des chiffres ici rapportés que :

1° La quantité totale d'acides de la série traitée par CO_3Na^2 *diminue* avec une dose *croissante* de sel.

2° La quantité totale d'acides de la série traitée par CaCl_2 *augmente* avec une dose *croissante* de sel.

3° La quantité d'acides solubles de la plante ne paraît pas être changée et cela dans les deux séries.

4° Par contre, seule la quantité d'acides insolubles contenue dans la plante change sous l'influence des sels ajoutés aux liquides nutritifs.

a) Dans les cas du carbonate de sodium cette quantité d'acides *diminue*.

b) Dans les cas du chlorure de calcium cette quantité d'acides *augmente*.

L'augmentation de la quantité d'acides sous l'influence du chlorure de calcium peut être expliquée par l'insolubilisation des acides organiques par le calcium à l'intérieur des cellules de la plante.

5° La différence de quantité d'acides entre les deux séries de témoins est due probablement, à la forme de la nutrition.

Ce dernier problème non résolu, doit être envisagé et approfondi dans l'intérêt de la culture, qui emploie des engrais sous forme d'azotate de sodium,

L'azotate de sodium, comme nous l'avons démontré, augmente l'alcalinité du milieu nutritif plus que l'azotate de calcium, et par suite, il augmente la production des acides à l'intérieur des cellules pendant le développement de la plante.

TROISIÈME PARTIE

III. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous nous sommes proposé de rechercher la quantité d'acides organiques dans les plantes supérieures et d'étudier les variations suivant les milieux de culture.

Le milieu dans lequel la plante poussait, était bien déterminé et la plante mise à l'abri de toute action microbienne.

Au bout d'un certain développement de la plante nous ajoutons au liquide nutritif des doses croissantes, d'une part de carbonate de sodium, d'autre part de chlorure de calcium.

Pendant ce temps, les plantes ont été constamment l'objet d'observations soit pour la mesure de la transpiration, soit pour la détermination du pH, soit pour tout ce que nous avons strictement constaté durant la végétation. Le point le plus important de nos études a été le dosage des acides dans les plantes ainsi cultivées.

A. *Les acides organiques totaux.* — Les plantes, qui ont subi l'action du carbonate de sodium ont vu leur quantité d'acides totale *diminuer*, et cette dimi-

nution était d'autant plus sensible que la dose du sel augmentait. Les plantes témoins, par contre, conservaient une quantité d'acides totale plus grande, ce qui est démontré par l'examen des acides solubles et des acides insolubles. Les acides insolubles changent, tandis que les acides solubles ne paraissent pas être influencés par le carbonate de sodium.

Ces changements des acides insolubles sont d'autant plus forts, que la dose du sel ajouté est plus grande.

Nous pouvons donc supposer qu'en présence du carbonate de sodium la formation des acides insolubles n'est pas favorisée, puisqu'il y a une diminution d'acide aux dépens des acides insolubles.

B. — Les plantes cultivées en milieu déterminé et stérile, qui ont subi l'action du chlorure de calcium, ont toujours vu *augmenter* la quantité totale d'acides. Cette augmentation était d'autant plus élevée que la dose de ce sel augmentait.

Les plantes témoins contiennent une quantité d'acides moins grande que celles dont le milieu a reçu le chlorure de calcium.

Dans le cas d'addition de chlorure de calcium nos plantes ont vu augmenter la quantité d'acides insolubles. Cette augmentation se traduit par le fait que l'élément calcium est insolubilisé dans les cellules à l'état de sels organiques de calcium, lesquels restent à l'intérieur de la plante.

Ceci se vérifie en examinant les chiffres des acides organiques insolubles.

La quantité d'acides solubles n'est pas non plus influencée par le chlorure de calcium.

Nous pouvons dire en ce qui concerne l'action du sel de calcium que ce sel favorise la formation des acides organiques insolubles.

Les variations du pH, pendant le développement des plantes nous permet de tirer les conclusions suivantes :

Le Maïs neutralise son milieu. Si son pH est au-dessus de 7, il l'acidifie ; et si ce pH est au-dessous de 7, il l'alcalinise. Le pH tend toujours à devenir un peu supérieur à 7 (pH 7,25).

La relation entre l'âge atteint par les plantes et les doses ajoutées dans le milieu de culture est la suivante : si l'on ajoute les mêmes quantités de sels à des plantes de développement différent, ce sont les plus développées qui résisteront le mieux à l'action nuisible des sels.

En ce qui concerne la croissance, nous croyons pouvoir conclure que cette croissance subit de la part des deux facteurs que nous avons étudiés une influence nuisible ; en effet, 0 g. 2 de CO_3Na^2 (la plus petite dose qui ait été employée) et 4 g. de Ca Cl^2 (quantité également la plus faible) ont provoqué, comme on peut le voir facilement par les chiffres que nous donnons, une diminution nette du poids de la plante.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Albahary (M.)*. — Nouvelle méthode de séparation et dosage des acides organiques dans les fruits et les légumes (C. R. Ac. Sc., 1907, t. 144, p. 1232).
2. *Amar (M.)*. — Sur le rôle de l'oxalate de Ca dans la nutrition des végétaux (Ann. des Sciences Nat. (botanique), 1904, t. 19, p. 195).
3. *André (G.)*. — Chimie Agricole, Chimie Végétale. Paris, 1909, p. 386.
4. *Astruc (A.)*. — Recherches sur l'acidité végétale. Thèse Paris, 1903.
5. *Aubert (E.)*. — Recherches physiologiques sur les plantes grasses. Thèse Paris, 1892.
6. — Sur la répartition des acides organiques dans les plantes grasses (Revue générale de Botanique, 1893, t. 2, p. 369).
7. *Benecke (W.)*. — Bot. Zeit., 1891, t. 61, p. 79.
8. *Bérard (M.)*. — Sur la maturation des fruits (Ann. Ch. Ph. 1818, t. 16, p. 152).
9. *Berg (A.) et Gerber (C.)*. — Sur la recherche des acides organiques dans quelques *Mesembryanthémées* (Revue générale de Botanique, 1896, t. 8, p. 295).
10. *Bernhauer (K.)*. — Über die Säurebildung durch *Aspergillus niger* (Biochem. Zeitschr., 1926, t. 172, 296-349).
11. *Budkewitsch (W.)*. — Über die Bildung der Glucon-und Citronensäure in den Pitzkulturen auf Zucker (Biochem. Zeitung., 1924, t. 154, 177).
12. *Dehérain (P.) et Moissan (H.)*. — Hypothèse des formations des acides organiques (C. R. Ac. Sc., 1887, t. 78, p. 1112).
13. *Detmer*. — Pflanzenphysiologie, 1883.

14. *Dragendorff (G.)*. — Encyclopédie chimique de Frémy, 1885, t. 10, p. 212.
15. *Duclaux (E.)*. — Chimie Biologique, 1883, t. 4, p. 291.
16. *Gauthier (A.)*. — Leçons de Chimie Biologique, 1897, p. 33.
17. *Gerber (C.)*. — Recherches sur la maturation des fruits charnus. Thèse Paris, 1897, p. 84.
18. *Guillaumin (Ch. O.)*. — Journ. Pharm. et Chimie, 1922, t. 25, p. 221.
19. *Karasiewicz (St.)*. — Influence du carbonate de sodium et du chlorure de calcium sur l'acidité du suc du Maïs (C. R. Ac. Sc., 1927, t. 184, p. 1192).
20. *Kolotova (S.)*. — Quelques observations sur l'influence du milieu sur l'entrée des substances minérales dans la plante dans les cultures en milieu aqueux (en russe). (Bull. Inst. Rech. Biol. Univ. Perm., 1927, V, 279. Analyse dans l'Année Biol., 1926-1927, VI, I, 615).
21. *Kraus (G.)*. — Anhandlungen der naturforschenden Gesells., 1884.
22. — — Analysé dans Ann. Agron., 1884, t. 10, p. 283.
23. *Mazé (P.)*. — Recherches sur la Physiologie végétale (Ann. Inst. Pasteur, 1911, t. 29, p. 705).
24. *Mazé (P.) et Perrier (A.)*. — Recherches sur l'assimilation de quelques substances ternaires par les végétaux à chlorophylle (Ann. Inst. Pasteur, 1904, t. 18, p. 721).
25. — — Recherches sur le mécanisme de la combustion respiratoire. Production de l'acide citrique par les *Cytophyces* (C. R. Ac. Sc., 1904, t. 139, p. 311).
26. *Minima (E. G.)*. — Sur l'acidité des sécrétions radiculaires (en russe). (Bull. Inst. Rech. Biol. Univ. Perm., 1927, V, 233. Analysé dans l'Année Biol., 1926-1927, VI, I, p. 615).
27. *Molliard (M.)*. — Observations sur le *Sterigmatocystis nigra* en présence d'une dose réduite de phosphore (C. R. Soc. Biologie, 1920, t. 84, p. 479).
28. — — Influence de la réaction du milieu sur la respiration du *Sterigmatocystis nigra* (C. R. Soc. Biologie, 1920, t. 84, p. 51).
29. — — Sur la signification physiologique de l'acide oxalique (C. R. Soc. Biologie, 1919, t. 83, p. 351).
30. — — Influence d'une dose réduite de potassium sur les caractères physiologiques du *Sterigmatocystis nigra* (C. R. Ac. Sc., 1920, t. 170, p. 949).

31. *Molliard (M.)*. — Sur une nouvelle fermentation acide produite par le *Sterigmatocystis nigra* (C. R. Ac. Sc., 1922, t. 179, p. 881).
32. — Nouvelles recherches sur la formation d'acides organiques par le *Sterigmatocystis nigra* (C. R. Ac. Sc., 1924, t. 178, p. 41).
33. *Mohl (Hugo von)*. — Grundzüge der Anatomie und Physiologie, 1851.
34. *Monteverde (P.)*. — L'oxalate de calcium et l'ox. de magnésium dans la plante. Saint-Petersbourg (Analysé dans Bot. Zentralblatt, t. 43).
35. *Muttelelet (F.)*. — Etude sur l'acidité des jus de fruits (Ann. des falsifications, 1909, t. 10, p. 383).
36. *Purjewicz (K.)*. — Die Bildung und Zersetzung der organischen Säuren bei den höheren Pflanzen (Bot. Zentr., 1894, t. 58, p. 368).
37. *Robert (Mlle Th.)*. — Recherches sur le rôle physiologique du calcium dans les végétaux. Thèse Paris, 1915, p. 97.
38. *Saussure (T. de)*. — Recherches chimiques sur la végétation. Paris, 1804.
39. — De l'influence des fruits verts sur l'air avant leur maturité.
40. *Vries (H. de)*. — Analysé dans Ann. Agron., 1884, t. 10, p. 329.
41. *Warburg (M.)*. — Sur la signification des acides organiques (Analysé dans Ann. Agron., 1886, t. 12, p. 272).
42. *Wehmer (C.)*. — Bot. Zeit., 1891, t. 61, p. 165.
43. — Bot. Zeit., 1891, t. 61, p. 79.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Utilisation en chimie du pouvoir rotatoire
et de la dispersion rotatoire.

Vu et approuvé :

Paris, le 16 avril 1928.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

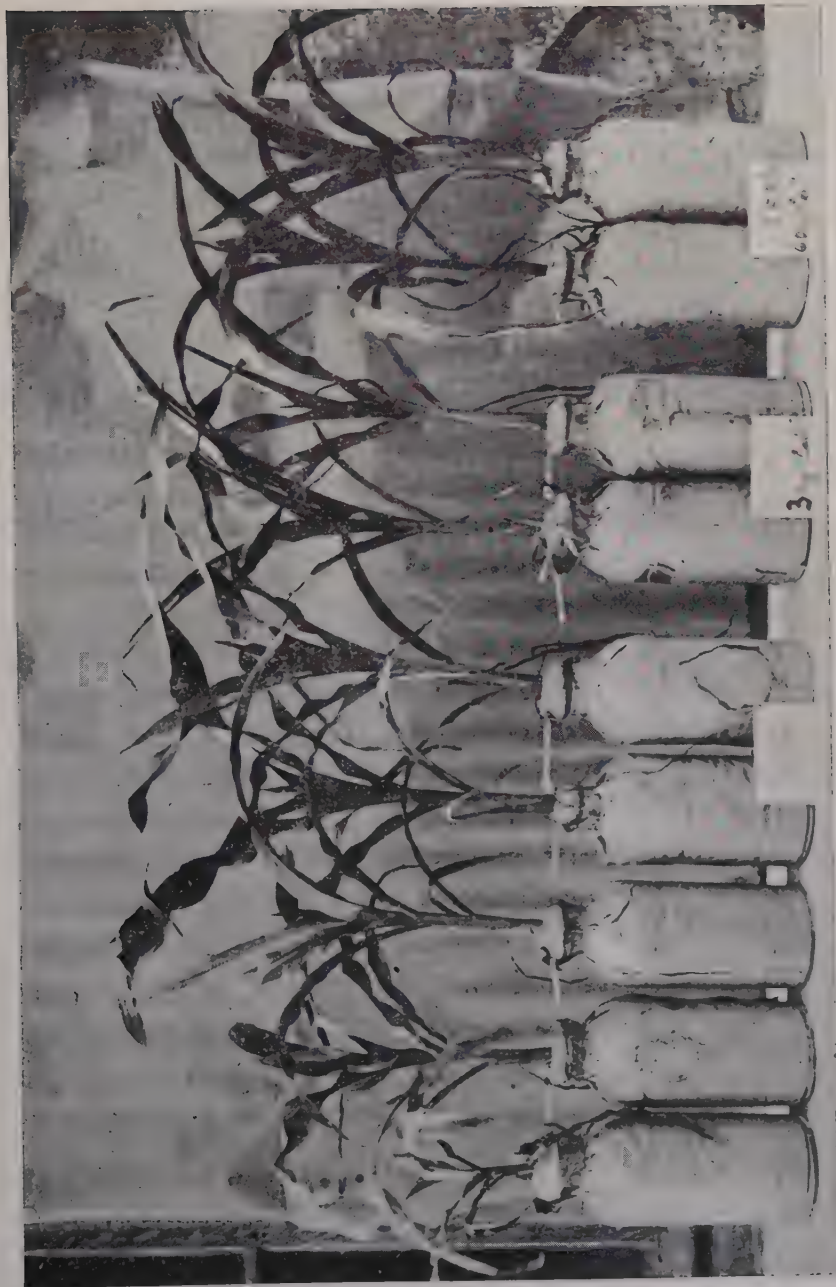
PLANCHE I



2^e SÉRIE

Plantes ayant germé le 25 avril 1926, photographiées le 24 juillet 1926.

Du côté droit : deux témoins ; les autres ont reçu : 5 g., 3 g. et 2 g. de Co^3Na^2 par flacon de 5 litres.



3^e SÉRIE

Plantes ayant germé le 4 juin 1926, photographiées le 31 juillet 1926.
Du côté gauche cinq témoins ; les autres ont reçu : 30 g. de CaCl_2 , par flacon de 2 litres.
C'est la dose maxima. On voit les feuilles qui se fanent.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
I. — AVANT-PROPOS	5
II. — HISTORIQUE	7
III. — PLAN ET BUT DU TRAVAIL	19

PREMIÈRE PARTIE

I. — TECHNIQUE EMPLOYÉE	23
§ 1. — Choix de la plante. Préparation et stérilisation des flacons. Méthode de culture aseptique	23
§ 2. — Liquide nutritif	27
§ 3. — Introduction dans les flacons de la solution nutri- tive et des solutions de sels	29
§ 4. — Mesure du pH	32
§ 5. — Durée des cultures, récolte, lavage et séchage des plantes	33
§ 6. — Méthode d'analyse	35
a) Principe de la méthode	41
b) Mode opératoire	42

DEUXIÈME PARTIE

II. — RÉSULTATS	45
§ 1. — Résultats des mesures de transpiration	45
a) Deuxième série	45
b) Troisième série	46

§ 2. — Mesures du pH.....	47
a) Première série.....	47
b) Deuxième série	51
c) Troisième série.....	54
§ 3. — Comparaison entre la durée de la vie des plantes et les doses des sels ajoutés.....	56
§ 4. — Influence des sels ajoutés sur le développement de la plante.....	58
§ 5. — Résultats du dosage des acides organiques.....	60
a) Deuxième série	61
b) Troisième série	65

TROISIÈME PARTIE

III. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES	72
BIBLIOGRAPHIE	75
Planches.....	78

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.....	78
--	----



